

**Ein Beitrag zur Teilchengrößenanalyse
mit dem Quantimet 720
und die Bewertung
der Kristall-Penetration
nach Salbenapplikation
in die menschliche Hornhaut
(Stratum corneum)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karin Wolter
aus Fulda

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Ein Beitrag zur Teilchengrößenanalyse
mit dem Quantimet 720
und die Bewertung
der Kristall-Penetration
nach Salbenapplikation
in die menschliche Hornhaut
(Stratum corneum)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karin Wolter
aus Fulda

1973

1. Referent: Prof. Dr. G. Stüttgen
2. Referent: Prof. Dr. K.-H. Frömming



Tag der mündlichen Prüfung: 17.8.1973

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus
und dem
Pharmazeutischen Institut
der Freien Universität Berlin

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Angestellte in der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Freien Universität Berlin im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus in Verbindung mit dem Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin.

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr.med. G.Stüttgen, dem Direktor der Klinik, der mich veranlaßte, nach Berlin zu kommen und mir eine Stelle in seiner Klinik übertrug sowie für die Überlassung des Themas und die weitere Förderung.

Herrn Professor Dr.rer.nat. K.-H. Frömming, vom Pharmazeutischen Institut, danke ich für seine stete Anteilnahme, dem jederzeit gewährten Rat und die gleichbleibende, anregende, wertvolle Diskussion von Problemen, die sich im Zusammenhang mit der Arbeit ergaben.

Herrn Professor Dr.rer.nat. H. Schaefer, dem Leiter des Forschungslabors der Hautklinik, danke ich für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse.

Für die Hilfe meiner Mitarbeiter aus dem Fotolabor danke ich dem Akademischen Rat, Herrn Dr. R. Käfer, Frau I. Supp und Frau B. Ostwald.

Der Metals Research GmbH, Offenbach/Main, danke ich für die herzliche Einbeziehung in ihren Arbeitskreis im Rahmen der Benutzung des Quantimets 720 (Bildanalysen-Computer), insbesondere Herrn J. Wisotzki, der dazu sofort seine Genehmigung gab und Herrn H. Zimmer, der mich im Umgang mit dem Gerät vertraut machte.

Der Technischen Universität Berlin, Fachbereich 17, danke ich für die Möglichkeit der Benutzung des Raster-Elektronen-Mikroskopes

und Frau H. Engnoth für ihre Hilfe bei der Erstellung der Aufnahmen.

Für die statistische Beratung und die Möglichkeit der Verwendung des Tischcomputers Wang 700 danke ich den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Statistik und Dokumentation (Direktor Professor Dr.med.Dr.rer.nat. G.Fuchs), besonders Frau Dipl.-Ing. K.Schmidt.

Sehr herzlich danke ich meiner Mutter, Frau H. Wolter, für ihre selbstlose Mithilfe bei den zu erstellenden Messungen mit dem Quantimet 720, den Berechnungen zur statistischen Auswertung derselben und der Hautpräparation für die Raster-Elektronen-Mikroskopie.

Ebenso möchte ich aufrichtig allen meinen Dank aussprechen, die mir uneigennützig mit Rat und Tat zur Seite standen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
1. Problemstellung	1
2. Historischer Überblick zur Penetration	2
3. Bekannte Penetrationsformen	3
II. Experimenteller Teil	5
1. Materialien	5
1.1. Modellsubstanzen und Salbengrundlage	5
1.2. Pharmazeutisch-technologische Zubereitungen und mikroskopische Präparate derselben	7
2. Methoden	9
2.1. Salbenapplikation - in vivo - und Abrissmethode	9
2.2. Nachweismethoden für kristalline Substanzen nach Salbenapplikation in der mittels Tesafilm abgehobenen Hornhaut	10
2.3. Anwendung der Gewebemikrotomie nach Salbenapplikation - in vitro -	10
2.4. Einsatz der Raster-Elektronen-Mikroskopie nach Salbenapplikation - in vitro -	11
2.5. Differenzmethode	12
3. Auswertung der mikroskopischen Bilder	14
3.1. Gesichtspunkte bei der Wahl der Methode zur Größenbestimmung von Kristall-Partikeln	14
3.2. Erläuterung und Eichung des Bildanalysen-Computers Quantimet (QTM) 720	17

	Seite
3.3. Programmierung des QTM 720	18
4. Die mikroskopischen Meßmethoden der Dispersität in Arzneibüchern	20
5. Ausführung der Versuche	22
5.1. Bestimmung des Durchmessers des mittleren Volumens ($\bar{d}$)	22
5.2. Zählung und Messung von Kristall- Partikeln in pharmazeutisch-techno- logischen Zubereitungen mit dem QTM 720	24
5.3. Zählung und Messung von Kristall- Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut mit dem QTM 720	27
6. Versuchspersonen	31
III. Resultate	32
1. Teilchengrößenverteilungen der Modellsub- stanzen in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen	32
1.1. Tabellarische Wiedergabe von drei Teil- chengrößenbestimmungen	32
1.2. Graphische Darstellungen	32
1.3. Reproduzierbarkeit der Resultate, Prüfung der Differenz	38
1.4. Streuungsbeurteilungen (einfache Varianzanalysen mit ungleichen Stich- probenumfängen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)	46

	Seite
2. Teilchengrößenverteilungen der Modellsubstanzen auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut	51
2.1. Reproduzierbarkeit der Resultate, Prüfung der Differenz	58
2.2. Streuungsbeurteilungen (doppelte Varianzanalysen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)	58
3. Beziehung zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der jeweilig applizierten Salbe und den entsprechenden Tesafilm-Abrissen Nr. 1 sowie Prüfung der Differenz	64
3.1. Streuungsbeurteilungen (einfache Varianzanalysen mit ungleichen Stichprobenumfängen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)	64
4. Graphische Darstellung von statistisch abgesicherten Resultaten	67
5. Beurteilung von Nativschnitten	67
6. Beurteilung der raster-elektronen-mikroskopischen Untersuchungen	67
IV. Diskussion	69
1. Teilchengrößenanalysen in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen	69
2. Teilchengrößenanalysen auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut	70
3. In vitro - Befunde	75

VI

	Seite
V. Zusammenfassung	76
VI. Literaturverzeichnis	77
Anhang	81
VII. Tabellarische Geradenzusammenstellung	81
VIII. Bildteil	102

I. Einleitung

1. Problemstellung

Bei der Anwendung von dermatologischen Externa, in denen der Wirkstoff teilweise oder ganz in Kristallform, d.h. ungelöst vorliegt, wird von der Voraussetzung ausgegangen, daß Kristalle nach epicutaner Applikation in die menschliche Hornhaut (Stratum corneum) penetrieren können¹⁾.

Trotzdem sind bisher keine Untersuchungen speziell über die Kristall - Penetration an der Haut und über die damit im Zusammenhang stehenden Probleme des Eindringungsmechanismus und des weiteren Abtransportes bekannt.

Diese Fragen sollen in der vorliegenden Arbeit sowohl - in vivo - als auch - in vitro - mit Suspensions-Salben untersucht werden. Hierbei sind folgende Punkte von besonderem Interesse:

1. Penetrieren Kristalle in die menschliche Hornhaut?
2. Von ausschlaggebender Bedeutung ist es, ein geeignetes mikroskopisches Meßsystem zur Erstellung von Teilchengrößenanalysen einmal für die Kristall-Partikel der Modellsubstanzen, die in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen vorliegen, und zum anderen für die in das Stratum corneum penetrierten Kristalle der entsprechenden Verbindungen heranzuziehen.
3. Die Teilchengröße der zur Verfügung stehenden kristallinen Substanzen ist zu berücksichtigen. Es ist festzustellen, welche Abhängigkeit zwischen der Partikelgröße der einzelnen Verbindungen und dem Penetrationsvermögen derselben in die Hornhaut sowie des weiteren Abtransportes besteht.

4. Welche Bedeutung kommt der chemischen Konstitution der ausgewählten Wirkstoffe zu?
5. Wie sind die in vitro-Versuche zu beurteilen?
6. Es ist der Zusammenhang zwischen in vivo- und in vitro-Verhalten abzuklären.

2. Historischer Überblick zur Penetration

Es ist aufschlußreich, an einem von ROTHMAN²⁾ gegebenen Literaturüberblick zu verfolgen, wie sich im Laufe der Zeit die wissenschaftlichen Vorstellungen über die Permeabilität der Haut gewandelt haben.

Bis zur Jahrhundertwende herrschte unter dem Einfluß von FLEISCHER³⁾ und seiner Schule die Meinung, daß die Haut für alle Substanzen, auch für Gase, absolut undurchlässig sei. Bis dahin (1877) hatte man angenommen, daß Gase und flüchtige Substanzen in die Haut eindringen können. Um 1900 setzte dann eine systematische experimentelle Forschertätigkeit ein, die vor allem von SCHWENKENBECHER⁴⁾ ausging. Seine Beobachtungen führten ihn zu dem Schluß, daß die Haut für fettlösliche Verbindungen und für Gase aufnahmefähig ist, jedoch nicht für Wasser und Elektrolyte.

Daß auch diese Annahme nicht im vollen Umfange richtig ist, haben die neueren Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen ergeben, durch die der Nachweis erbracht worden ist, daß auch Wasser und Elektrolyte in die menschliche Haut penetrieren können.

3. Bekannte Penetrationsformen

Es bestehen für die Penetration drei Möglichkeiten:

- a) die transepidermale Penetration
- b) die transfollikuläre Penetration
- c) die Penetration durch die Schweißdrüsenausgänge

Diese angeführten Penetrationsformen sind experimentell belegt worden. Es ist hervorzuheben, daß das hier gestellte Thema dabei völlig unberücksichtigt geblieben ist.

Da die Schweißdrüsenausgänge nach den vorliegenden Untersuchungen als Penetrationsweg kaum eine Rolle spielen, wird diese Möglichkeit in der vorliegenden Arbeit nicht verfolgt.

Bereits Versuche von MAC KEE⁵⁾ und Mitarbeitern mit Farbstoffen, von HERRMANN⁶⁾ mit Allergenen und von SHELLEY und MELTON⁷⁾ mit Histamin - auf die ROTHMAN²⁾ verweist - haben auf Grund der Untersuchungen der perkutanen Resorption ergeben, daß die Penetration an den schweißdrüsenreichen Händen und Fußsohlen geringfügig ist.

Die herabgesetzte perkutane Resorption wird von ROTHMAN²⁾ nicht auf die Dicke der Hornschicht, sondern auf das Fehlen der Haarfollikel zurückgeführt.

Der oberflächliche Lipoidfilm und auch die lockeren Schichten des Stratum corneum setzen dem Eindringen der Substanz keinen wesentlichen Widerstand entgegen. Die Untersuchungen von MIESCHER⁸⁾ haben gezeigt, daß sich das entscheidende Hindernis für die Penetration auf eine schmale Zone beschränkt, die sich zwischen dem verhornten und unverhornten Teil der Epidermis befindet. Sie entspricht ihrer Lokalisation nach dem Stratum lucidum und schließt nach ROTHMAN²⁾ die unteren Anteile des

Stratum corneum mit ein. Diese Übergangszone bildet die eigentliche Barriere für die transepidermale Penetration. Hat eine Substanz diese Barriere überwunden, so besteht kein wesentliches Hindernis mehr für die weitere Diffusion, die nach ROTHMAN²⁾ über die Retezellen führt.

Man hat anfangs geglaubt, daß die Barriere ein nahezu unüberwindliches Hindernis sei. In letzterer Zeit hat man festgestellt, daß es Substanzen gibt, die dieses Hindernis überwinden können und durch die Barriere hindurch in die Kutis gelangen.

BORELLI und METZGER⁹⁾ haben Acridinorange als Testsubstanz verwendet und in Serienschnitten fluoreszenzmikroskopisch die Anwesenheit dieser Substanz in allen Schichten der Epidermis und auch im Korium nachweisen können.

Neben dem direkten Weg durch die Epidermis (transepidermale Penetration) erfolgt stets auch eine Penetration über die Haarfollikel, wobei eine Substanz in das Korium gelangt, ohne ein der epidermalen Barriere entsprechendes Hindernis überwinden zu müssen. Dieser Penetrationsweg führt im allgemeinen zu einer schnelleren Absorption, die sich später mit der transepidermalen Absorption im Sinne eines "Steady-state" - Gleichgewichts nach der Darlegung von BLANK und SCHEUPLEIN¹⁰⁾ einpendelt.

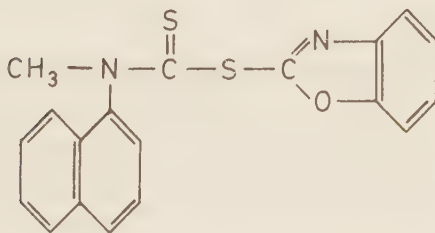
II. Experimenteller Teil

1. Materialien

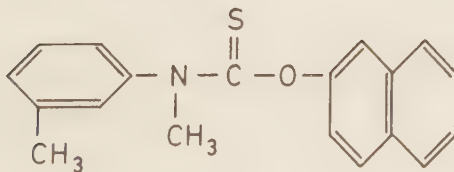
1.1. Modellsubstanzen und Salbengrundlage

Für die nachfolgenden Untersuchungen werden in der vorliegenden Arbeit als Modellsubstanzen folgende Verbindungen verwendet, und zwar:

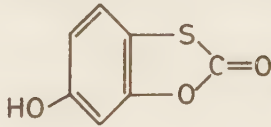
- a) das Antimykotikum KF 224 (Methyl-1-naphthyl-dithiocarbaminsäure-2-benzoxaloyl-ester),



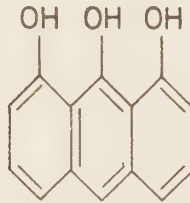
- b) das Antimykotikum Tolnaftat [2-Naphthyl-N-methyl-N-(3-tolyl)-thiocarbamat],



- c) das Antipsoriatikum Psolil^R (6-Hydroxy-1,3-benzoxathiol-2-on),



- d) das Antipsoriatikum Cignolin (1,8-Dihydroxyanthranol),



- e) das Lokalanaesthetikum Anaesthesin^R (p-Aminobenzoessäure-äthylester),



f) Natriumcarbonat, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$

g) Marmorpulver, Ca CO_3

Zur Herstellung von Suspensions-Salben wird eine abwaschbare, wasserfreie Salbengrundlage (Bild 1) benutzt, die sich folgendermaßen zusammensetzt:

α -Tocopherol	0,03 g
Cremophor A fest	1,0 g
Adeps Lanae anhydricus	2,0 g
Cremophor O	6,0 g
Vaselineum album	42,4 g
Paraffinum subliquidum	42,5 g

1.2. Pharmazeutisch-technologische Zubereitungen und mikroskopische Präparate derselben

Um einen Überblick über die Teilchengröße der Modellsubstanzen zu erhalten, werden zunächst folgende Kristall-Suspensionen manuell hergestellt:

KF 224	-Paraffin-Suspension	5 %ig
Tolnaftat	- " "	5 %ig
Psoil	- " "	1 %ig
Cignolin	- " "	5 %ig
Anaesthesin	-Glycerin-	5 %ig
Natriumcarbonat	-Paraffin-	10 %ig
Marmorpulver	- " "	5 %ig

Bei dem in Anwendung gekommenen Paraffin handelt es sich um dünnflüssiges Paraffin DAB 7.

Unmittelbar danach wird etwas von der jeweiligen Suspension auf Objekträger gebracht. Diese werden 1 Min. ruhig gestellt, um der Suspension eine gewisse Ausbreitung, Sedimentation und Orientierung der Teilchen zu erlauben. Dann wird ohne Druck mit Deckgläsern fixiert.

Um eine Verdunstung des Suspensionsmittels, welche erfahrungsgemäß die Gleichmäßigkeit der Verteilung stört, die Agglomeration fördert und die Auszählung erschwert, zu verhindern, werden die Deckglasränder mit Eukitt abgedeckt.

Für die Einarbeitung der kristallinen Substanzen kommt die bereits beschriebene und auf dem Wasserbad geschmolzene Salbengrundlage in Anwendung. Die Salben werden kalt gerührt, wobei der Kristallanteil aller Suspensions-Salben (Bilder 2 - 8) 5 % beträgt.

Von jeder der Suspensions-Salben werden mit einem Spatel jeweils geringfügige Mengen entnommen und auf Objekträger möglichst dünn ausgestrichen. Diese werden anschließend gleichfalls ohne Druck mit Deckgläsern fixiert, damit die Salbengrundlage, eine Emulsion, keinen Schaden davonträgt.

2. Methoden

2.1. Salbenapplikation - in vivo - und Abrißmethode

Die so zubereiteten Salben werden freiwilligen Versuchspersonen, die an den Unterarmen eine pathologisch unauffällige Haut aufweisen, appliziert.

Zunächst wird auf einem Arm mit markierter Fläche eine überschüssige Menge Salbe aufgetragen. Die Einwirkungszeit beträgt 10 Minuten. Danach erfolgt eine mechanische Reinigung des Hautfeldes und innerhalb dieses gekennzeichneten Feldes eine zweite Markierung mittels eines Stempels (Bild 9). Es wird Tesafilm 104 (Beiersdorf), der 19 mm breit ist, auf das bereits gereinigte und gestempelte Hautfeld aufgeklebt und dieser entsprechend der in der Dermatologie vielfach verwendeten Abrißmethode entfernt.

Als Möglichkeit zur Erfassung von Hautschichttiefen bietet sich dieses Verfahren, d. h. das kontinuierlich aufeinanderfolgende Abheben der Hornschicht mit Tesafilm an, wobei auch gleichzeitig ein Abheben der Stempelmarkierung erfolgt.

Die 19 mm breite Markierung des Stempels trägt zu einer guten Orientierung beim Aufkleben des Tesafilms bei. Das Quadrat, das eine Fläche von 1 cm^2 aufweist, spielt für die späteren Untersuchungen der Tesafilm-Abrisse eine ausschlaggebende Rolle. Das Kreuzchen über dem Quadrat dient der Orientierung im Rahmen der Herstellung der dazu notwendigen Präparate.

Die Abrißmethode geht in ihrem Prinzip schon auf WOLF¹¹⁾ zurück und wurde von PINKUS¹²⁾, SZAKALL¹³⁾ und LORINCZ¹⁴⁾ weiterentwickelt.

Im Anschluß an den ersten Versuch wird auf dem anderen Unterarm der gleichen Versuchsperson dieselbe Salbe 10 Minuten lang ein-

massiert, der Salbenüberschuß entfernt, gestempelt und gestrippt.

Am nächsten Tag erfolgt der dritte Versuch. Wiederum an einem Unterarm der gleichen Versuchsperson wird auf einer weiteren Hautfläche eine überschüssige Menge derselben Salbe aufgetragen und leicht mit einer Mullaufgabe abgedeckt. Die darauffolgende Einwirkungszeit beträgt 2 Stunden. Dann wird der Versuch wie die beiden vorausgegangenen weitergeführt.

2.2. Nachweismethoden für kristalline Substanzen nach Salbenapplikation in der mittels Tesafilm abgehobenen Hornhaut

Um den Nachweis zu erbringen, daß sich auf den Tesafilm-Ab-rissen nach erfolgter Salbenapplikation neben der Hornhaut möglicherweise kristalline Verbindungen befinden, die sich in ihrer Konstitution grundsätzlich voneinander unterscheiden, wird von der Eigenschaft des Lichts, das beim Übergang einer Grenzschicht zwischen zwei Substanzen mit unterschiedlicher optischer Dichte gebrochen wird, Gebrauch gemacht. Die Verwendung von polarisiertem Licht erweist sich zur Sichtbarmachung der Kristalle (Bild 10) als vorteilhaft.

Da fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen bei entsprechender Wellenlänge des UV - Erregerlichtes für unterschiedliche Verbindungen dieses Ergebnis unterstützen müssen, wird es mit KF 224 überprüft und ergibt den gleichen Befund.

2.3. Anwendung der Gewebemikrotomie nach Salbenapplikation - in vitro -

Mit der Tesafilm-Abrißmethode und mikroskopischen Verfahren kann nachgewiesen werden, daß Kristall-Partikel nach Salben-

applikation in die menschliche Haut eindringen. Es ist daraus zu schließen, daß sowohl eine intracorneale Penetration, die in die trans-epidermale übergehen wird, als auch eine transfollikuläre Penetration vorliegt.

Um das zu bestätigen, werden nach Salbenapplikation auf extirpierter Haut Nativschnitte derselben hergestellt.

Die in Anwendung kommende Haut ist unmittelbar nach deren Extirpation eingefroren und vor der Salbenapplikation wieder schonend aufgetaut worden.

Auf die aufgetaute Haut wird eine überschüssige Menge KF 224 - bzw. Tolnaftat-Salbe aufgetragen. Nach einer Einwirkungszeit von 10 Min. werden verbliebene Salbenreste mechanisch entfernt, und es werden mittels eines Gefriermikrotoms vertikale Schnitte der Haut hergestellt und auf Objektträger übertragen.

Die vorliegenden Präparate kommen in eine feuchte Kammer und werden unmittelbar nach ihrer Fertigstellung ohne Deckgläschen im Polarisationsmikroskop beurteilt.

2.4. Einsatz der Raster-Elektronen-Mikroskopie nach Salben-applikation - in vitro -

Es wäre weiterhin interessant zu klären, wie die Kristalle nach der Salbenapplikation in die menschliche Hornhaut eindringen. Das soll mit Hilfe der Raster-Elektronen-Mikroskopie versucht werden.

Zu diesem Zwecke werden nach Salbenapplikation auf extirpierter Haut wieder Präparate derselben hergestellt.

Die in Anwendung kommende Haut wird, wie in II. 2. 3. beschrieben, behandelt und geteilt.

Auf einen Teil der zu benutzenden Haut wird eine überschüssige Menge KF 224 - Salbe aufgetragen. Nach einer Einwirkungszeit von 10 Min. werden die Salbenreste gleichfalls mechanisch entfernt. Der andere Teil der Haut bleibt unbehandelt. Aus behandelter und unbehandelter Haut werden Schnitte mittels Rasierklingen erstellt und auf Deckgläser mit einem Durchmesser von 10 mm gebracht. Die Präparate der behandelten Haut werden gleichfalls geteilt, und ein Teil derselben wird zusätzlich mit Xylol gereinigt. Anschließend werden alle erstellten Präparate gut getrocknet. Die Haut liegt so auf den Deckgläschen, daß die Hautoberfläche mit Gold bedampft werden kann, um der raster-elektronen-mikroskopischen Untersuchung unterworfen zu werden.

2. 5. Differenzmethode

Um die Permeabilität der Haut für körpereigene, aber auch für andere Substanzen zu prüfen, haben u. a. FLEISCHER³⁾, HEDIGER¹⁵⁾ und BÜRGI¹⁶⁾ Untersuchungen am Applikationsort mit der Differenzmethode durchgeführt, bei der die der Haut angebotene und die am Ende der Versuche zurückbleibende Substanzmenge bestimmt wird.

Diese Methode ist insofern von Bedeutung, als sie genaue quantitative Angaben über die an die Haut abgegebenen Substanzmengen liefert und durch die Verfolgung des zeitlichen Verlaufes in seiner Abhängigkeit von der Konzentration, der Einwirkungsfläche und der Temperatur die Möglichkeit bietet, die in der ersten Phase des Penetrationsvorganges zugrunde liegenden Gesetzmäßigkeiten zu erfassen (W. SCHULZE und K. REIF¹⁷⁾).

Da in der vorliegenden Arbeit Suspensions-Salben in Anwendung kommen und die Salbengrundlage während der Salbenapplikation entweder schneller oder langsamer als die jeweilig suspendierte kristalline Modellschubstanz in die Haut eindringen kann, wird folglich der Wirkstoffgehalt in der überschüssigen Salbe verändert.

Aus diesem Grunde ist die Differenzmethode für die Penetration von Kristall-Partikeln ungeeignet.

3. Auswertung der mikroskopischen Bilder

3.1. Gesichtspunkte bei der Wahl der Methode zur Größenbestimmung von Kristall-Partikeln

Da die Kristalle der verschiedenen Substanzen nach Salbenapplikation auf den Tesafilm-Abrissen mit Hornhaut polarisationsmikroskopisch gut sichtbar gemacht werden können, erhebt sich nun die Frage nach einer geeigneten Größenbestimmung derselben, und zwar in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen und auf einer definierten Fläche der Tesafilm-Abrisse.

Die mikroskopische Größenbestimmung ist bei der vorliegenden Versuchsanordnung die einzig brauchbare Meßmethode. Das mikroskopische Bild von Partikeln ermöglicht nur eine Strecken- oder Flächenmessung.

Die Bestimmung der Teilchengröße in absoluten Werten ist praktisch nicht durchführbar, da die meisten Teilchen unregelmäßige Formen besitzen und somit in verschiedenen Meßachsen verschiedene Dimensionen aufweisen. Für die mikroskopische Analyse wird in der Regel ein Mittel vieler Durchmesser genommen, wobei die Messung auf verschiedene Weise erfolgen kann.

Zur Bestimmung des MARTIN'schen Durchmessers $d_M^{18)}$ werden Geraden entweder parallel zur Abszisse oder einer anderen Bezugsgeraden so durch alle Teilchen gelegt, daß jede Teilchenfläche in zwei gleiche Hälften aufgetrennt wird. Die Flächenhalbierende legt den Durchmesser d_M fest. Da die Orientierung aller Partikel bei Vernachlässigung des Formfaktors durch den Zufall erfolgt, ergibt sich ein statistischer Durchmesser. Eigentlich müssten die Geraden durch den Schwerpunkt der Teilchen gehen.

Da jedoch der Schwerpunkt nur umständlich zu ermitteln ist, begnügt man sich mit der Flächenhalbierenden. Diese ist zwar keine Schwer-

punktslinie, doch ist die Abweichung gering.

Auch der FERET'sche Durchmesser $d_{\text{Fer}}^{19)}$ ist ein statistischer. Er entspricht der Distanz zwischen den beiden einander gegenüberliegenden, äußersten Tangenten eines Teilchens senkrecht auf einer willkürlich gewählten Meßachse und unabhängig von der Orientierung der Teilchen.

Der AEQUIVALENT - Durchmesser $d_A^{20)}$ wird bestimmt, indem man die zu messenden Teilchen in solcher Weise umkreist, daß Kreisflächen den projizierten Teilchenflächen entsprechen und eine Messung der Durchmesser dieser Kreise erfolgt.

Die Werte der auf obige Weise definierten Durchmesser stimmen, außer bei Kugelgestalt der Teilchen, nicht überein.

Bei der Ermittlung des AEQUIVALENT - Durchmessers sind subjektive Einflüsse möglich ^{21), 22)} und zwar derart, daß die Fläche der Teilchen im Vergleich zu den Kreisflächen je nach Versuchsperson über - oder unterschätzt wird.

Bezüglich der Genauigkeit der drei Methoden weist HERDAN²³⁾ daraufhin, daß sich folgende Reihenfolge ergibt, wenn der AEQUIVALENT - Durchmesser durch das Ausplanimetrieren von projizierten Teilchen, was sehr zeitraubend ist, als Standard ermittelt wird, wobei die Annäherung an diesen abnimmt:

- a) AEQUIVALENT - Durchmesser unter Verwendung von transparenten Kreisflächen zum Teilchenflächenvergleich
- b) Statistischer Durchmesser nach MARTIN
- c) AEQUIVALENT - Durchmesser unter Verwendung von undurchsichtigen Kreisflächen zum Teilchenflächenvergleich
- d) Statistischer Durchmesser nach FERET

Im Falle von a und c ist es günstig, sich der PATTERSON - CAWOOD - Methode (1936)²⁴⁾ in Bild 11 zu bedienen. Diese Methode ist von FAIRS (1943, 1951)²⁵⁾ verbessert und von den BRITISH STANDARDS INSTITUTIONS (1963)²⁶⁾ spezifiziert worden.

Im Hinblick auf die Zusammenstellung von HERDAN²³⁾ empfehlen TAWASHI und SPEISER²⁷⁾ für pharmazeutische Zwecke die Verwendung des in a beschriebenen Durchmessers.

Weiterhin liegen Ergebnisse vor, die aussagen, daß im Vergleich zum als Standard ermittelten AEQUIVALENT -Durchmesser derjenige nach MARTIN unter- und der nach FERET überschätzt wird. Daraus ergibt sich gleichzeitig wieder eine größere Annäherung zwischen d_M zu d_A als von d_{Fer} zu d_A . Diese Feststellung läßt sich auch durch statistische Untersuchungen ableiten, wie GEBELEIN²⁸⁾ im einzelnen gezeigt hat.

Aus weiteren Messungen ist zu schließen, daß die Unterschiede zwischen den Werten der verschieden definierten Durchmesser um so kleiner sind, je größer dabei die Zahl der gemessenen Teilchen ist.

In der vorliegenden Arbeit wird auf Grund der beträchtlichen Anzahl der durchzuführenden Teilchengrößenanalysen versucht, eine geeignete mikroskopische Methode zusätzlich mit einer best-möglichen Arbeitserleichterung und einer wesentlichen Zeiteinsparung zu vereinbaren. Das einzig geeignete Mittel der Wahl stellt hierfür ein Bildanalysen-Computer dar. Zur Zählung und Messung der Kristall-Partikel wird deshalb das Quantimet 720 der Firma METALS RESEARCH (Bilder 12 a und b) eingesetzt.

Mit diesem Gerät besteht die Möglichkeit der Bestimmung der Durchmesser nach MARTIN, die eine zufriedenstellende Genauigkeit der Messungen im Hinblick auf die von HERDAN²³⁾ zusammengestellte Übersicht garantiert.

3.2. Erläuterung und Eichung des Bildanalysen-Computers Quantimet (QTM) 720

Da Beschreibungen des QTM bereits in der Literatur^{29), 30)} zu finden sind, soll nur eine kurze Erläuterung der Funktion desselben erfolgen.

Die zu untersuchenden Objekte können mit Hilfe eines handelsüblichen Mikroskopes für Auf- und Durchlicht (hier Bauart:Forschungsmikroskop REICHERT) durch einen Binokularaufsatz betrachtet und anschließend von einer Fernsehkamera aufgenommen werden. Diese tastet das Bild zeilenweise ab, wobei von dem angeschlossenen Rechner Teilbereiche, die sich durch hinreichend starke Helligkeitsunterschiede voneinander abgrenzen, je nach Einstellung längen- oder flächenhaft erfaßt und ausgewertet werden können. Ein nachgeschalteter Schreiber druckt den Wert sofort aus.

Zusätzlich erscheint das Objektbild auf dem Monitor, der zugleich auch den Ort der Zählimpulse sichtbar werden läßt.

Das Gerät ist grundsätzlich in Bildpunkten geeicht. Um absolute Größen zu erhalten, muß man die Größe der Bildpunkte kennen. Diese hängt ab von den optischen Kombinationen des Mikroskopes, wie Objektive, Optavar und Kameratubus.

Um die Größe der Bildpunkte zu ermitteln, ist es notwendig, ein Objektmikrometer auf den Monitor zu projizieren, wobei das Standardmeßfeld desselben charakterisiert ist durch 800 x 625 Zeilen = 500 000 Bildpunkte. Es ist gleichzeitig möglich auf den Monitor Skalenstriche einer vorgegebenen Bildpunktzahl einzublenden, um festzustellen, wieviel Teile des Objektmikrometers mit der vorgegebenen Bildpunktzahl zur Deckung gelangen. Daraus läßt sich der jeweils spezifische Mikrometerwert M, also die

absolute Größe, errechnen.

3.3. Programmierung des QTM 720

Um den statistischen Durchmesser nach MARTIN für das anfallende Kristallmaterial bestimmen zu können, wird die aus Bild 13 zu ersehende Programmierung des Gerätes, das sich aus Funktions-Einschüben zusammensetzt, vorgenommen.

Diese erfolgt durch Einschrauben von Programmierstiften auf einem dazu gehörigen Programmierbrett, welches vertikal 32 Kolonnen und horizontal 16 Zeilen aufweist. Angenehm ist, daß die Kolonnen eine alphabetische Reihenfolge besitzen.

Die Stifte in der Kolonne

- A rufen den Detector (DETECTOR)-Einschub ab und wählen die entsprechende Anweisung aus.
Wenn diese Stifte nicht eingeschraubt sind, dann ignoriert der Programm (PROGRAMMER)-Einschub alle anderen Stifte in der gleichen Zeile.
- B, C, D u. E kommen wahlweise für den gewünschten Detector-Ausgang in Anwendung.
- J wählen die Funktion des Computers entsprechend der Stellung des Funktionsschalters, nämlich im vorliegenden Fall "COUNT" (Zählen), aus. Bei der Teilchenzählung ist zusätzlich der Schalter des Standard-Computers auf "FULL FEATURE" (Einzelmerkmal) zu stellen.

L, M, N,
P, R u. S

diskriminieren wahlweise bis zu acht Stellungen auf dem Größenverteiler (SIZE DISTRIBUTOR)-Einschub. Es ist zu beachten, daß zwei Stifte für jede Wahlanweisung gesetzt sein müssen, wobei R, S dem achten Klassifizierungsschritt entspricht unter Verwendung des "SIZER" (Vorwahlzähler), der sich am Standard-Computer befindet.

T

leiten die in der Zeile vorhandenen Anweisungen zum Fernschreiber (TELETYPE DRIVE)-Einschub, welcher die Weitergabe der am Monitor sichtbaren Ergebnisse übernimmt und die Daten ausdruckt.

W u. X

verweisen auf den internen Fernschreiber Code.

Die durchzuführenden Messungen werden nicht vollautomatisch, sondern halbautomatisch durchgeführt, d. h. der so vorprogrammierte Ablauf der Messungen erfolgt automatisch für jedes einzelne Feld durch persönlichen Steuerbefehl. Der Feldwechsel wird gleichfalls selbsttätig vorgenommen.

Diese Arbeitsweise hat den Vorteil, daß beliebig zwischen den Messungen nachfokussiert werden kann, wenn es nötig ist.

4. Die mikroskopischen Dispersitätsmethoden der Arzneibücher

Die mikroskopischen Dispersitätsmethoden der Arzneibücher beruhen durchweg nur auf einer Normierung der maximalen Teilchengröße (DAB 7/DDR, Ph. Helv. VI), die in Salben zulässig ist.

Im DAB 7/BDR werden überhaupt keine bindenden Vorschriften im Hinblick auf die Partikelgröße in Salben gemacht. Es wird nur gefordert, daß keine größeren Teilchen vorhanden sein dürfen, als es die Natur der Ausgangsstoffe bedingt.

Das DAB 7/DDR setzt als Höchstgrenze für Arzneistoffe, die zur Verarbeitung von Suspensions-Salben bestimmt sind, eine Teilchengröße von maximal $60\text{ }\mu$ als größte Ausdehnung der Kristalle fest.

Nach der Ph. Helv. VI müssen für die Salbenherstellung 90 von insgesamt 100 gemessenen Teilchen kleiner als $170\text{ }\mu$ sein. Die restlichen 10 Teilchen dürfen nicht über $200\text{ }\mu$ messen.

Diese Angaben treffen nur für dermatologisch anzuwendende Salben zu, jedoch nicht für Augensalben.

Mit dem Begriff eines definierten Durchmessers wird nicht operiert.

Für eine Beurteilung des Vorhandenseins der kristallinen Substanzen im Anschluß an die in die Hornhaut erfolgte Penetration ist eine numerische Erfassung der größten Partikel geeignet. Im Hinblick auf die Überprüfung des Penetrationsvermögens in Abhängigkeit von der Partikelgröße der Modellsubstanzen besteht die zwingende Notwendigkeit, für diese in fest umrissenen Meßbereichen brauchbare Dispersitätsgrößen ausschließlich von Masse und Volumen abzuleiten.

Bereits SPEISER³¹⁾ hat die Frage erhoben, ob eine Meßmethode (Ph. Helv. VI), welche lediglich die Häufigkeit der Teilchen und nicht die Teilchenmasse oder das Teilchenvolumen einbezieht, pharmazeutisch

vertretbar ist. Die rein zahlenmäßige Erfassung der Teilchen pro Größenklasse und deren numerische Umrechnung auf die Teilchengrößenverteilung sagt nichts über den volumenmäßigen Anteil der Partikel aus.

In der vorliegenden Arbeit wird deshalb der Durchmesser aus dem mittleren Volumen ($\bar{d}$) aller Gesamteilchen berechnet und somit nicht nur die Zahlenverteilung, sondern auch die Volumenverteilung der Partikel berücksichtigt.

5. Ausführung der Versuche

5.1. Bestimmung des Durchmessers des mittleren Volumens ($\bar{d}$)

Um ein Bild über den durchschnittlichen Teilchendurchmesser nach MARTIN und die Größenverteilung einer Substanz zu erhalten, müssen verschiedene Teilchengrößenklassen zu Grunde gelegt werden. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß bei der Einteilung in allzu enge Teilchengrößenklassen mehr Zeit benötigt wird, um die Teilchen einer gewissen Größenklasse zuzuordnen. Werden hingegen die Teilchengrößenklassen erweitert, d.h. die Teilchengröße in breitere Intervalle eingeteilt, so kann die Meßzeit wesentlich reduziert werden³²⁾.

Die Größenklassen müssen so gewählt werden, daß die erhaltene Teilchengrößenverteilung als repräsentativ betrachtet werden kann.

Es wird die durchschnittliche Teilchenanzahl eines Monitorfeldes des QTM 720 innerhalb der gewählten Größenklasse berechnet (durchschnittliche Teilchenanzahl pro Monitorfeld). Da die errechnete Teilchenhäufigkeit innerhalb einer Größenklasse einer definierten Beobachtungsfläche entspricht, ist diese als Einheits-Monitorfeld zu bezeichnen (Teilchenhäufigkeit innerhalb eines Einheits-Monitorfeldes, n_i). Nach Berechnung des durchschnittlichen Teilchendurchmessers innerhalb einer Größenklasse (d_i) wird das jeder einzelnen Größenklasse zugehörige Teilchenvolumen (V) wie folgt berechnet²³⁾:

$$V = \alpha \cdot d_i^3 \cdot n_i \qquad \alpha = \text{Formfaktor}$$

Die Berechnung des Teilchenvolumens ist einfach, wenn die Teilchen regelmäßige, geometrisch definierbare Formen aufweisen. In den meisten Fällen trifft dies aber nicht zu, so daß die Festlegung der Form sowie des Teilchenvolumens in eine absolute Größe nicht möglich ist. In grober Annäherung kann aber angenommen werden, daß der Formfaktor (α) für verschiedene Feinheitsgrade des gleichen Materials ungefähr identisch bleibt, vorausgesetzt, daß nicht verschiedene Kristallmodifikationen³³⁾ auftreten. In solchen Fällen muß die Probe wie ein Gemisch von zwei oder mehreren Substanzen behandelt werden. In der Praxis, insbesondere in der pharmazeutischen Produktionskontrolle, der Stabilitätsprüfung usw., wird der Formfaktor für ein Material allgemein als konstant angenommen und kann vernachlässigt werden. Beim Vergleich der mikroskopischen Analyse mit anderen Teilchengrößenbestimmungsmethoden ist der Formfaktor hingegen von Wichtigkeit.

Nach Berechnung des Teilchenvolumens unter Vernachlässigung des Formfaktors wird das prozentuale Verhältnis der Volumina pro Größenklasse zum Gesamtvolumen der Teilchen (Teilchengrößenverteilung, v_i) ermittelt.

$$v_i = \frac{d_i^3 \cdot n_i \cdot 100}{\sum d_i^3 \cdot n_i}$$

Aus v_i und d_i wird der Durchmesser aus dem mittleren Volumen aller Gesamteilchen berechnet (Durchmesser des mittleren Volumens, volume mean diameter, $\bar{d}$):

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i \cdot v_i}{\sum v_i}$$

Die erhaltenen Verhältniswerte pro Größenklasse (v_i) können sowohl als Volumenprozente wie Gewichtsprozente betrachtet werden, vorausgesetzt, daß die Dichte aller Teilchen gleich ist. Der erhaltene Wert $\bar{d}$ läßt sich demzufolge sowohl als Durchmesser des mittleren Volumens wie als Durchmesser des mittleren Gewichtes aus den Gesamteilchen bezeichnen.

5.2. Zählung und Messung von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen

Die Messung von sehr kleinen Kristallen in den bereits beschriebenen Suspensions-Salben ist nicht möglich, da diese von Bestandteilen der verwendeten Salbengrundlage nicht zu differenzieren sind.

Sofern die Modellsubstanzen in dünnflüssigem Paraffin DAB 7 suspendiert sind, mit Ausnahme des Anaesthesins, das als Glycerin-Suspension vorliegt, ist auch dieser Anteil des Kristallspektrums exakt zu erfassen (s. a).

Im Anschluß daran erfolgen weitere Messungen von Kristall-Suspensionen unter Verzicht auf den ersten Größenintervall oder im Falle des Marmorpulvers auf einen Teil desselben (s. b).

Analog wird beim Messen der Suspensions-Salben verfahren (s. b).

Durch dieses Vorgehen wird erreicht, daß in den Suspensions-Salben ausschließlich Kristall-Partikel gemessen werden, und es ist zusätzlich eine Untersuchung möglich, ob die Teilchengröße der jeweiligen Verbindung durch die Salbenherstellung eine Veränderung erfahren hat oder nicht.

Bei der Festlegung der maximalen Teilchengröße für KF 224 bei 150 μ , für Tolnaftat, Psol, Cignolin, Anaesthesin und Natrium-

carbonat bei 60 μ u. a. sind die Zahlenangaben der Arzneibücher mit berücksichtigt worden.

Der Anteil der Partikel, der über die Maximalgrößenbereiche hinausgeht, wird überprüft.

Die Aufteilung der für die Messungen in Frage kommenden Teilchengrößenbereiche in 5 - 7 Größenklassen ist zweckmäßig.

Die dazu notwendigen Intervallschritte in μ werden wie folgt gewählt, und zwar:

für KF 224

a)	>0,	>25,	>50,	>75,	>100,	>125,	>150
b)		>25,	>50,	>75,	>100,	>125,	>150

für Tolnaftat, Psoil, Cignolin und Natriumcarbonat

a)	>0,	>10,	>20,	>30,	>40,	>50,	>60
b)		>10,	>20,	>30,	>40,	>50,	>60

für Anaesthesin

1. Suspension

a)	>0,	>10,	>20,	>30,	>40,	>50,	>60,	>80
b)		>10,	>20,	>30,	>40,	>50,	>60,	>80

2. Salbe

	>10,	>20,	>30,	>40,	>50,	>60
--	------	------	------	------	------	-----

für Marmorpulver

a)	>0,	>10,	>15,	>20,	>25,	>30,	>35
b)	>7,	>10,	>15,	>20,	>25,	>30,	>35

Die Zählung und Messung der Teilchen wird mit dem QTM 720 und der in II. 3.3. beschriebenen Programmierung bei folgenden optischen Bedingungen durchgeführt:

a) Objektiv	4	x
b) Objektiv	10	x
Optavar	1,25	x
Polarisator		
Kameratubus	10	x

Die Übertragung der mikroskopischen Bilder erfolgt hier hauptsächlich mittels einer Vidikon-Kamera. Lediglich bei der Anaesthesin- Glycerin-Suspension kommt eine Plumbikon-Kamera in Anwendung.

Aus der optischen Kombination resultiert für a) eine 50fache und für b) eine 125fache Vergrößerung.

Das KF 224 wird bei 50facher Vergrößerung gemessen, alle anderen Substanzen bei 125facher.

Die Größe der Monitorfläche beträgt nach Eichung

a) bei der Verwendung der Vidikon-Kamera:

$$1000 \mu \times 780 \mu = 780\,000 \mu^2$$

b) bei Verwendung der Vidikon-Kamera:

$$400 \mu \times 312,5 \mu = 125\,000 \mu^2$$

bei Verwendung der Plumbikon-Kamera:

$$600 \mu \times 468,75 \mu = 281\,250 \mu^2$$

Um eine Überlappung der Meßfelder auszuschließen, erfolgt die Einstellung der "STEP SIZE" (Schrittgröße) für KF 224 auf 1,2 mm x 1,2 mm und für alle anderen Substanzen auf 0,62 mm x 0,62 mm unter Verwendung des Einschubes der x - y - Koordinaten - Steuerung des Objektisches, obwohl selbst eine Überlappung der Felder unbedeutend ist, da es sich ohnehin bei der Zählung der Kristall-Partikel um relative Zahlenwerte handelt.

Die Teilchen werden also in willkürlich herausgegriffenen Meßfeldern gezählt und gemessen. Insgesamt werden auf dem Programm (PROGRAMMER)-Einschub 20 Meßfelder zu Grunde gelegt. Die festgesetzte Anzahl soll die Möglichkeit offen lassen, auf ungenaue Messungen zu verzichten.

Das in Bild 14 wiedergegebene Meßblatt, dessen Werte Bestandteil einer Teilchengrößenanalyse der KF 224 - Suspension sind, soll das Ergebnis des durch die Programmierung festgelegten Meßprinzips veranschaulichen. Teilchen, die größer als die jeweils eingestellten Meßwerte auf den Klassifizierungs-Kanälen des Größenverteiler-Einschubes sind, werden gezählt. Teilchen, die kleiner sind, werden nicht registriert. Daraus ist zu ersehen, daß sich nun die gesuchte Teilchenanzahl für jeden einzelnen Größenintervall bestimmen läßt.

5.3. Zählung und Messung von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut mit dem QTM 720

Im Anschluß an die durchgeführte Abrißmethode, bereits in II. 2. 1. erläutert, und die damit verbundene horizontale Abtragung der Haut nach erfolgter Salbenapplikation werden nun die Kristall-Partikel auf den Tesafilm-Abrissen mit dem QTM 720 unter weiterer Beibehaltung der in II. 3. 3. aufgeführten Programmierung gezählt und gemessen.

Um die Meßzeit wesentlich zu verkürzen, werden die Größenklassen hier gezielt erweitert, also die Teilchengröße in breitere Intervalle aufgeteilt.

Für die durchzuführenden Messungen werden maximal für KF 224 4, für Tolnaftat 6, für Psoil 5, für Anaesthesin 4, für Natriumcarbonat 5 und für Marmorpulver 4 Größenklassen zu Grunde gelegt, die beim Messen der Kristall-Partikel auf den Tesafilm-Ab-rissen parallel zur Abnahme der Kristalle in tieferen Hornhaut-schichten kontinuierlich verringert werden.

Die dafür erforderlichen Intervallschritte in μ werden wie nach-stehend festgelegt, und zwar:

für KF 224

>5, >25, >105, >175, >245

für Tolnaftat

>5, >25, >55, >75, >95, >115 >135

für Psoil

>5, >25, >55, >75, >95, >115

für Anaesthesin

>5, >25, >55, >75, >95

für Natriumcarbonat

>5, >25, >55, >75, >95, >115

für Marmorpulver

>5, >15, >25, >45, >65

Bei der Zählung und Messung der Partikel wird weiterhin aus-schließlich von folgender optischer Bedingung Gebrauch gemacht.

Objektiv	10	x
Optaver	1,25	x
Polarisator		
Kameratubus	10	x

Für die Übertragung der mikroskopischen Bilder kommt hier nur die Plumbikon - Kamera in Anwendung.

Alle kristallinen Verbindungen auf den jeweiligen Tesafilm-Ab-rissen werden also bei einer 125fachen Vergrößerung gemessen.

Die Größe der Monitorfläche beträgt nach Eichung analog zu
II. 5.2.

$$600 \mu \times 468,75 \mu = 281\,250 \mu^2$$

Um eine Überlappung der Meßfelder auszuschließen, erfolgt die Einstellung der "STEP SIZE" (Schrittgröße) gleichfalls auf 0,62 mm x 0,62 mm unter Verwendung des Einschubes der x - y-Koordinaten-Steuerung des Objektisches.

Die Kennzeichnung der 1 cm² großen Hautfläche mittels eines Stempels hat sich auf die Tesafilm-Abrisse übertragen. Im Anschluß an das stetige aufeinanderfolgende Abheben der Hornhautschicht nach Salbenapplikation mit Tesafilm kommen für die Messung mit dem QTM 720 jeweils die Tesafilm-Abriß-Nummern 1, 3, 6 und 10 in Anwendung.

Die ausgewählten Tesafilm-Abrisse werden mit der nicht klebenden Seite auf Objektträgern befestigt. Zur besseren Auffindung der markierten Fläche von 1 cm² wird diese unmittelbar vor der Messung zusätzlich durch das Auflegen einer Metall-Schablone gekennzeichnet.

Die Meßfeldzahleinstellung auf 169 (13 x 13) erfolgt hier in Abhängigkeit von der definierten Fläche von 1 cm², deren Randzone um 0,97 mm reduziert wird im Sinne einer Schutzzone, der berechneten Monitorfläche und der daraus in Anwendung kommenden "STEP SIZE" (Schrittgröße) von 0,62 mm x 0,62 mm der x - y - Koordinaten-Steuerung des Objektisches.

Daraus resultiert für die Messung eine Gesamtfläche von 64,96 mm².

Die Kristall-Partikel der verschiedenen Verbindungen auf den entsprechenden Tesafilm-Abrissen werden ausschließlich bei möglichst guter Abdunkelung des übrigen Feldes gemessen.

Der Einsatz der Plumbikon-Kamera zur Zählung und Messung von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen der menschlichen Hornhaut hat seine Berechtigung wegen der größeren Lichtempfindlichkeit und des schnelleren Abtastvermögens im Gegensatz zur Vidikon-Kamera.

Da Haare wie die Kristalle doppelt lichtbrechend sind, müssen derartige Messungen, die durch das Vorhandensein von Haaren das Meßergebnis verfälschen, eliminiert werden.

Eine Beeinflussung der Messung durch Salbengrundlage scheidet aus.

Auf die Untersuchung der Kristall-Penetration von Cignolin ist auf Grund des unzureichenden Helligkeitsunterschiedes zwischen diesen Kristallen und der menschlichen Hornhaut im polarisierten Licht mit dem QTM 720 verzichtet worden.

6. Versuchspersonen

Suspensions- Salben 5%ig	Versuche	Probanden	Geschlecht	Alter	Erkrankung
KF 224 Salbe	A	S., Hamdija	♂	22	Tumor am Fußrücken
	B	W., Hildegard	♀	58	-
	C	Sch., Kurt	♂	64	Mycosis fungoides (praemykoides Stadium)
Tolnaftat- Salbe	D	St., Wolfgang	♂	29	Handekzem
	E	W., Hildegard	♀	58	-
	F	Sch., Kurt	♂	64	s. o.
Psol- Salbe	G	Sp., Herbert	♂	39	Furunkel am Hoden
	H	St., Wolfgang	♂	29	-
	I	Sch., Kurt	♂	64	s. o.
Anaesthesin- Salbe	J	W., Hildegard	♀	58	-
	K	S., Hamdija	♂	22	s. o.
	L	Sch., Kurt	♂	64	s. o.
Natriumcarbonat- Salbe	M	St., Wolfgang	♂	29	s. o.
	N	Sch., Kurt	♂	64	s. o.
	O	S., Hamdija	♂	22	s. o.
Marmorpulver- Salbe	P	Sch., Kurt	♂	64	s. o.
	Q	St., Wolfgang	♂	29	s. o.
	R	S., Hamdija	♂	22	s. o.

III. Resultate

1. Teilchengrößenverteilungen der Modellsubstanzen in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen

1.1. Tabellarische Wiedergabe von drei Teilchengrößenbestimmungen

Lediglich die Resultate von drei verschiedenen Teilchengrößenanalysen und deren weitere Auswertung, gemäß den vorausgegangenen Angaben, werden ausführlich in Form der nachfolgenden Tabellen 1-3 exemplarisch wiedergegeben.

In gleicher Weise sind die in den Tabellen 4 - 10 aufgeführten Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) bestimmt worden.

1.2. Graphische Darstellungen

Da der Zusammenhang zwischen der Teilchenhäufigkeit innerhalb eines Einheits-Monitorfeldes (n_1) und der ihr zugehörigen durchschnittlichen Teilchendurchmesser innerhalb einer Größenklasse (d_1) dargelegt werden soll, ist als Ansatz für die mathematische Beschreibung folgende Schätzfunktion ³⁴⁾ ausgewählt worden:

$$\hat{Y} = a \cdot e^{\frac{b}{x}}$$

Unter Einführung von

$$z = \frac{1}{x}$$

ergibt sich

$$\hat{Y} = a \cdot e^{b \cdot z}$$

und

$$\lg \hat{Y} = \lg a + b \cdot z \cdot \lg e$$

Tabelle 1

Teilchengrößenbestimmung von KF 224-Kristallen in einer Suspensions-Probe

Teilchenklasse [μ]	Durchschnittliche Teilchenzahl eines Monitorfeldes $\hat{=}$ n_i	d_i	d_i^3	$n_i d_i^3$	v_i	$\bar{d}$	s
>0 - 25	82, 21	12, 5	1.953, 13	160.566, 82	3, 3		3, 3
>25 - 50	15, 50	37, 5	52.734, 38	817.382, 89	17, 0		20, 3
>50 - 75	3, 93	62, 5	244.140, 63	959.472, 68	20, 0	84, 6	40, 3
>75 - 100	1, 64	87, 5	669.981, 88	1.098.671, 88	22, 9		63, 2
>100 - 125	0, 71	112, 5	1.423.828, 13	1.010.917, 97	21, 1		84, 3
>125 - 150	0, 29	137, 5	2.599.609, 38	753.886, 72	15, 7		100, 0
>150	0, 07						
N = 1461	104, 35 (x 14)						

Tabelle 2

Teilchengrößenbestimmung von KF 224-Kristallen in einer weiteren Suspensions-Probe

Teilchenklasse [μ]	Durchschnittliche Teilchenzahl eines Monitorfeldes $\bar{n}_i$	d_i	d_i^3	$n_i d_i^3$	v_i	$\bar{d}$	s
>25 - 50	16,44	37,5	52.734,38	866.953,21	19,1		19,1
>50 - 75	4,56	62,5	244.140,63	1.113.281,27	24,5		43,6
>75 - 100	1,44	87,5	669.921,88	964.687,51	21,2	83,8	64,8
>100 - 125	0,72	112,5	1.423.828,13	1.025.156,25	22,6		87,4
>125 - 150	0,22	137,5	2.599.609,38	571.914,06	12,6		100,0
>150	0,17						
N = 424	23,55 (x 18)						

Tabelle 3

Teilchengrößenbestimmung von KF 224-Kristallen in einer Salben-Probe

Teilchenklasse [μ]	Durchschnittliche Teilchenzahl eines Monitorfeldes $\bar{n}_i$	d_i	d_i^3	$n_i d_i^3$	v_i	$\bar{d}$	s
>25 - 50	23,55	37,5	52.734,38	1.241.894,65	17,5		17,5
>50 - 75	6,85	62,5	244.140,63	1.672.363,32	23,5		41,0
>75 - 100	2,50	87,5	699.921,88	1.749.804,70	24,6	85,6	65,6
>100 - 125	0,90	112,5	1.423.828,13	1.281.445,32	18,0		83,6
>125 - 150	0,45	137,5	2.599.609,38	1.169.824,22	16,4		100,0
>150	0,75						
N = 700	35,00 (x 20)						

Zur Bestimmung der Parameter wird diese Funktion in folgende Form überführt:

$$\lg \hat{Y} = u + v \cdot z$$

Daraus folgt mit

$$\lg \hat{Y} = \hat{y}$$

und

$$\lg a = u$$

sowie

$$b \cdot \lg e = v$$

die Gleichung

$$\hat{y} = u + v \cdot z$$

Die Minimierungsbedingung zur Ermittlung der Konstanten u und v lautet:

$$\sum (\hat{y} - y)^2 \stackrel{!}{=} \text{Minimum}$$

Die Konstanten bestimmen sich zu

$$v = \frac{\sum x y - \sum x \sum y/n}{\sum x^2 - (\sum x)^2 / n}$$

und

$$u = (\sum y - v \cdot \sum x)/n$$

Es handelt sich bei der Gleichung $\hat{y} = u + v \cdot z$ um eine Geradengleichung, wobei im vorliegenden Fall

$$\hat{y} = \lg n_i$$

$$u = a$$

$$v = b$$

$$z = \frac{1}{d_i}$$

ist.

Die Geraden, die den Verlauf der transformierten Meßergebnisse optimal approximieren, sind sogenannte Regressionsgeraden.

Stellvertretend für alle ermittelten Geraden, die in VII . gesondert zusammengestellt sind, wird die Anpassung der Funktionen an die Versuchsergebnisse aus Tabelle 1, 2 und 3 in Bild 15 graphisch dargestellt.

Der Verlauf der nicht dargestellten Regressionsgeraden ist abgesehen von quantitativen Unterschieden entsprechend.

Für weitere graphische Darstellungen kommen die aus den Tabellen 1, 2 und 3 direkt zu entnehmenden Werte in Anwendung.

Auf Histogramme bezüglich der Teilchengrößenverteilung ist verzichtet worden, da sie lediglich ein angenähertes Bild über diese geben. Die fortlaufende Häufigkeit der Teilchengröße ist nicht erkennbar, und das Histogrammbild variiert mit den gewählten Größenklassen.

Verteilungsdichtekurven geben Größenabstufungen besser wieder und sind bereits bei Sandanalysen³⁵⁾ erfolgreich angewendet worden. Es kommen Verteilungsdichtekurven und Verteilungssummenkurven in Frage. Im vorliegenden Fall sind beide Kurven (Bilder 16 und 17) bestimmt worden.

1.3. Reproduzierbarkeit der Resultate, Prüfung der Differenz

Von TAWASHI und SPEISER²⁷⁾ ist belegt worden, daß Unterschiede bei Teilchengrößenanalysen eines homogenen Musters auf Zufälligkeiten von Stichproben und Gesichtsfeldern unter Verwendung der gleichen optischen Technik und des gleichen Meßverfahrens beruhen und weiterhin auf experimentelle Unzulänglichkeiten bei der Analyse zurückzuführen sind.

Bei der Erstellung der Teilchengrößenanalysen der sieben Modellsubstanzen ist die gleiche optische Technik mit dem QTM 720 und das gleiche Meßverfahren in Anwendung gekommen, d.h. der statistische Durchmesser der Teilchen ist nach MARTIN gemessen worden. Aus den Tabellen 1 - 3 wird ersichtlich, daß die Teilchengrößenverteilungen der Volumina sowie die Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) verschiedener Stichproben der gleichen Verbindung (Grundgesamtheit) variieren.

In der vorliegenden Arbeit ist besonders zu berücksichtigen, daß durch Differenzierungen im Hinblick auf den Wechsel des Mediums bzw. der unterschiedlichen pharmazeutisch-technologischen Zubereitung, in der die Teilchen gemessen worden sind, und der geringfügig variierenden Festsetzung der zu erfassenden minimalen Teilchengröße ein Einfluß auf die jeweilig verwendete Substanz (Grundgesamtheit) in Form einer signifikanten Variabilität zwischen den $\bar{d}$ -Werten verschiedener Meßreihen ausgeübt werden könnte.

Um die Differenzen zwischen den $\bar{d}$ -Werten auf Signifikanz oder Zufälligkeit zu bewerten, ist eine statistische Untersuchung aller Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) - ermittelt in 3 Meßreihen - separat für jede Verbindung notwendig. Die nachfolgenden Tabellen geben die $\bar{d}$ -Werte für jede Substanz wieder.

Tabelle 4

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von KF 224-Kristallen, bestimmt durch insgesamt 11 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
	Suspension	Suspension	Salbe
1	97, 2 (N=1714, A=0, 88%)	92, 9 (N=573, A=3, 14%)	83, 1 (N=643, A=0 %)
2	79, 7 (N=1702, A=0, 18%)	90, 5 (N=704, A=0, 43%)	85, 6 (N=700, A=2, 14 %)
3	77, 6 (N=1763, A=0, 40%)	80, 9 (N=559, A=2, 50%)	
4	84, 6 (N=1461, A=0, 07%)	83, 8 (N=424, A=0, 71%)	
5		87, 9 (N=432, A=0, 71%)	

N = Zahl der dabei analysierten Teilchen

A = Anteil der Teilchen, der dabei noch über den festgelegten Maximalgrößenbereich hinausgeht.

Tabelle 5

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Tolnaftat - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 4 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	37, 2 (N=702, A=0, 28%)	38, 6 (N=166, A=3, 01 %)	41, 0 (N=870, A=2, 41%)
2	35, 6 (N=571, A=0, 70%)		

Tabelle 6

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Psol - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 8 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	31, 5 (N=2307, A=0, 30%)	33, 2 (N=543, A=0, 73%)	34, 4 (N=536, A=0, 37%)
2	34, 7 (N=1394, A=0, 67%)	34, 1 (N=731, A=1, 91%)	43, 3 (N=701, A=3, 14%)
3	35, 8 (N=1957, A=0, 46%)	36, 6 (N=802, A=2, 24%)	41, 2 (N=778, A=1, 80%)
4		31, 3 (N=618, A=0, 97%)	

Tabelle 7

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Cignolin - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 11 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	43,3 (N=320, A=2,5 %)	41,5 (N=144, A=7,64%)	37,0 (N=424, A=8,73%)
2	40,2 (N=313, A=3,83%)	43,0 (N=133, A=6,77%)	43,2 (N=268, A=9,70%)
3	37,9 (N=270, A=2,59%)	43,2 (N=149, A=0 %)	39,8 (N=252, A=7,14%)
4	40,0 (N=172, A=0 %)		
5	36,4 (N=284, A=0,35%)		

Tabelle 8

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Anaesthesin - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 9 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	53, 7 (N= 609, A=0, 49%)	54, 6 (N=223, A=0, 90%)	40, 8 (N=347, A=7, 78%)
2	44, 6 (N=1094, A=0, 09%)	55, 1 (N=182, A=2, 20%)	34, 0 (N=263, A=2, 66%)
3	55, 2 (N= 515, A=0, 78%)	49, 8 (N=315, A=0, 64%)	37, 5 (N=388, A=1, 80%)

Tabelle 9

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Natriumcarbonat - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 5 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	45, 7 (N=437, A=4,81%)	42, 5 (N=166, A=12,05%)	39, 7 (N=729, A=5,21%)
2		37, 6 (N=126, A= 4,76%)	
3		41, 3 (N=176, A=11,93%)	

Tabelle 10

Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) in μ von Marmorpulver - Kristallen, bestimmt durch insgesamt 21 Stichproben in 3 Meßreihen

Lfd. Nr. der Stichproben	Meßreihen		
	1	2	3
1	17, 2 (N=2809, A=0, 28%)	18, 9 (N=1174, A=0, 77%)	19, 6 (N=1196, A=0, 84%)
2	18, 1 (N=2875, A=0, 14%)	19, 2 (N=1439, A=0, 83%)	19, 1 (N= 751, A=2, 31%)
3	19, 4 (N=3078, A=0, 29%)	19, 1 (N=1281, A=1, 17%)	19, 1 (N=1069, A=0, 94%)
4	16, 1 (N=2880, A=0, 03%)	18, 6 (N=1065, A=1, 03%)	
5	18, 7 (N=2588, A=0, 23%)	18, 0 (N= 882, A=1, 25%)	
6	18, 0 (N=3072, A=0, 20%)	16, 5 (N= 679, A=0, 74%)	
7	18, 3 (N=2710, A=0, 18%)	20, 4 (N= 965, A=2, 28%)	
8	15, 7 (N=3422, A=0, 03%)		
9	15, 4 (N=2774, A=0, 07%)		
10	16, 4 (N=3858, A=0, 10%)		
11	18, 2 (N=2441, A=0, 20%)		

1.4. Streuungsbeurteilungen (einfache Varianzanalysen mit ungleichen Stichprobenumfängen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)

Die Streuungszerlegung stellt sicher, ob die Unterschiede zwischen den $\bar{d}$ -Werten einer normalverteilten Grundgesamtheit, hier einer Modellsubstanz, erhalten in 3 Meßreihen, signifikant sind oder zufällig, da mit deren Hilfe die Variabilität zwischen den verschiedenen Werten in unabhängige elementare Variationsfaktoren aufgelöst wird. Zur Berechnung der sich anschließenden Streuungszerlegungen dienen die Werte aus den Tabellen 4 - 10.

Da bei der Messung Stichproben mit dem Umfang $n_1, n_2, \dots, n_k$, von k Meßreihen einer Grundgesamtheit vorgelegen haben, ist x_{ij} durch die j -te Stichprobe der i -ten Meßreihe zu charakterisieren mit³⁶:

$$n_1 + n_2 + \dots + n_k = n.$$

Vorausgesetzt, daß alle x_{ij} unabhängig sind

$$N(\mu_i, \sigma^2), i=1, \dots, k. \quad \text{und} \quad x_{ij} = \mu_i + e_{ij}$$

$$(i=1, \dots, k; j=1, \dots, n_i)$$

und e_{ij} gleichfalls, $N(0, \sigma^2)$

so kann der F-Test für die Null-Hypothese

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$$

wie nachstehend lauten

$$\hat{F} = \frac{SSB/k - 1}{SSE/n - k} = \frac{A}{B}$$

$$\hat{F} = \frac{n - k}{k - 1} \frac{\left[\sum_{i=1}^k \frac{1}{n_i} \left(\sum_{j=1}^{n_i} x_{ij} \right)^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij} \right)^2 \right]}{\left[\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}^2 - \sum_{i=1}^k \frac{1}{n_i} \left(\sum_{j=1}^{n_i} x_{ij} \right)^2 \right]}$$

mit den Freiheitsgraden $k - 1$ und $n - k$.

Danach ergeben sich folgende Ergebnisse;

1.) für KF 224

18.207500000	=	SSB
329.892500000	=	SSE
9.103750000	=	A
41.236562500	=	B
0.220768886	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	$k-1$
8.000000000	=	$n-k$

2.) für Tolnaftat

14.440000000	=	SSB
1.280000000	=	SSE
7.220000000	=	A
1.280000000	=	B
5.640625000	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	$k-1$
1.000000000	=	$n-k$

3.) für Psoil

69.442333300	=	SSB
67.806666700	=	SSE
34.721166650	=	A
9.686666671	=	B
3.584428764	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	$k-1$
7.000000000	=	$n-k$

4.) für Cignolin

17.981333300	=	SSB
48.338666700	=	SSE
8.990666650	=	A
6.042333337	=	B
1.487946153	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	k-l
8.000000000	=	n-k

5.) für Anaesthesin

440.142222200	=	SSB
106.060000100	=	SSE
220.071111100	=	A
17.676666683	=	B
12.449808272	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	k-l
6.000000000	=	n-k

6.) für Natriumcarbonat

23.985333330	=	SSB
13.046666670	=	SSE
11.992666665	=	A
6.523333335	=	B
1.838426161	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	k-l
2.000000000	=	n-k

7.) für Marmorpulver

11.619480510	=	SSB
26.450043300	=	SSE
5.809740255	=	A
1.469446850	=	B
3.953691999	=	$\hat{F}$
2.000000000	=	k-l
18.000000000	=	n-k

wobei $SSB = A \cdot k - 1$

$SSE \doteq B \cdot n - k$

A = Mittleres Quadrat zwischen den Reihen

B = Mittleres Quadrat innerhalb der Reihen

$\hat{F}$ = Quotient aus dem mittleren Quadrat zwischen den Reihen und dem mittleren Quadrat innerhalb der Reihen

$k - 1$ = Meßreihen - 1

$n - k$ = Gesamtmessungen - k = Freiheitsgrade

ist.

Das Streuungsverhältnis zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der 3 Meßreihen beträgt

für KF 224

$$\hat{F} = 0,22 < 4,46 = F(2; 8; 0,05)$$

für Tolnaftat

$$\hat{F} = 5,64 < 199,5 = F(2; 1; 0,05)$$

für Psoil

$$\hat{F} = 3,58 < 4,74 = F(2; 7; 0,05)$$

für Cignolin

$$\hat{F} = 1,49 < 4,46 = F(2; 8; 0,05)$$

für Anaesthesin

$$\hat{F} = 12,45 > 5,14 = F(2; 6; 0,05)$$

für Natriumcarbonat

$$\hat{F} = 1,84 < 19,00 = F(2; 2; 0,05)$$

für Marmorpulver

$$\hat{F} = 3,95 > 3,55 = F(2; 18; 0,05)$$

Lediglich beim Anaesthesin und beim Marmorpulver sind die Unterschiede zwischen den $\bar{d}$ -Werten der 3 Meßreihen bei einem vorgegebenen Signifikanz-Niveau von 5 % ($P = 0,05$) nicht zufällig wie bei den übrigen Substanzen, sondern signifikant.

Zwei weitere Varianzanalysen mit nur 2 Meßreihen sollen die für die Signifikanz verantwortliche Ursache klären. Beim Anaesthesin werden für die Varianzanalyse die Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der Meßreihe eins und zwei und beim Marmorpulver die der Meßreihe zwei und drei verwendet.

Es folgt:

für Anaesthesin

6.000000000	=	SSB
82.933333400	=	SSE
6.000000000	=	A
20.733333350	=	B
0.289389067	=	$\hat{F}$
1.000000000	=	k-1
4.000000000	=	n-k

für Marmorpulver

0.744047610	=	SSB
8.840952390	=	SSE
0.744047610	=	A
1.105119048	=	B
0.673273717	=	$\hat{F}$
1.000000000	=	k-1
8.000000000	=	n-k

Danach beträgt das Streuungsverhältnis zwischen den $\bar{d}$ -Werten der 2 Meßreihen

für Anaesthesin

$$\hat{F} = 0,29 \quad \text{vs} \quad 7,71 = F_{(1; 4; 0,05)}$$

für Marmorpulver

$$\hat{F} = 0,67 \quad < 5,32 = F_{(1; 8; 0,05)}$$

Es läßt sich daraus ableiten, daß bei der Herstellung der Anaesthesin-Salbe eine Verkleinerung des Kristallmaterials erfolgt ist. Beim Marmorpulver ist dagegen der signifikante Unterschied bei einem Signifikanz-Niveau von 5 % ($P = 0,05$) durch die variierende Festsetzung der zu messenden minimalen Teilchengröße hervorgerufen worden, da ein bedeutender Anteil dieser Substanz im Bereich von größer 0 bis 7 μ liegt.

2. Teilchengrößenverteilungen der Modellsubstanzen auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut

Die Meßergebnisse jeder Tesafilm-Abriß-Bestimmung werden auf gleiche Weise wie in Tabelle 1 behandelt.

Da jedoch der Umfang von insgesamt 216 [3 (sich unterscheidende Applikationen in Zeit und Form) x 4 (Tesafilm-Abrisse 1, 3, 6 und 10) = 12 (Messungen) x 3 (Versuche von jedem Wirkstoff) = 36 (Messungen) x 6 (Wirkstoffe) = 216 (Messungen)] derartiger Tabellen nicht sinnvoll ist, erfolgt im Rahmen einer besseren und schnelleren Übersicht für jede Modellsubstanz eine Tabelle, deren Zahlenmaterial Mittelwerte aus drei durchgeführten Versuchen repräsentiert und Auskunft gibt über die Volumenprozent der Kristalle auf den Tesafilm-Abrissen 1, 3, 6 und 10, und zwar in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

Die Wiedergabe der Regressionsgeraden erfolgt im Anhang gesondert analog zu III.1.2., und sofern sich die Größenklassen nur noch auf zwei belaufen, werden gleichfalls im Anhang Geradengleichungen ($y = a x + b$) aufgeführt, wobei $y = n_i$ und $x = \frac{1}{\bar{d}_i}$ ist und n_i linear von $\frac{1}{\bar{d}_i}$ abhängt.

Tabelle 11

Volumenprozent (v_i) von KF 224-Kristallen auf Tesafilm-Abrißen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

10 Min. Einwirkung	Tesafilm-Abriß Nr.		1	3	6	10
	Teilchenklasse [μ]	N	2209	163	33	30
	>5 - 25		3,9	5,2	17,1	18,1
	>25 - 105		65,3	86,1	82,9	81,9
	>105 - 175		27,2	8,7		
	>175 - 245		3,5			
	$\bar{d}$		88,6	68,9	56,5	56,0
10 Min. Einmassage	Teilchenklasse [μ]	N	2490	177	43	45
	>5 - 25		3,5	6,6	18,6	23,0
	>25 - 105		59,6	86,3	81,4	77,0
	>105 - 175		27,1	7,1		
	>175 - 245		9,8			
	$\bar{d}$		97,8	67,0	55,8	53,5
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse [μ]	N	7543	1457	158	115
	>5 - 25		6,0	6,2	9,3	10,9
	>25 - 105		65,1	81,8	82,5	89,1
	>105 - 175		18,7	9,6	8,2	
	>175 - 245		10,2	2,3		
	$\bar{d}$		90,8	72,5	66,8	59,5

Tabelle 12

Volumenprozent (v_i) von Tolnaftat-Kristallen auf Tesafilm-Abrissen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

Tesafilm-Abriß Nr.		1	3	6	10
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse [μ]	N			
		3180	373	50	43
	>5 - 25	29,7	30,2	47,4	58,9
	>25 - 55	37,0	36,8	32,9	41,0
	>55 - 75	14,6	22,4	19,7	
	>75 - 95	7,9	5,4		
10 Min. Einmassage	>95 - 115	3,6	5,2		
	>115 - 135	7,2			
	$\bar{d}$	48,3	43,5	33,1	25,3
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse [μ]	N			
		2706	226	83	35
	>5 - 25	30,0	31,4	43,7	100,0
	>25 - 55	36,3	40,3	56,3	
	>55 - 75	15,4	20,1		
	>75 - 95	7,6	8,2		
2 Std. Einwirkung	>95 - 115	7,3			
	>115 - 135	3,4			
	$\bar{d}$	47,4	40,9	29,1	15,0
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse [μ]	N			
		8725	1107	107	74
	>5 - 25	42,3	44,2	57,0	80,3
	>25 - 55	34,9	35,7	43,0	19,7
	>55 - 75	10,5	8,6		
	>75 - 95	6,0	7,0		
2 Std. Einwirkung	>95 - 115	3,7	1,7		
	>115 - 135	2,6	2,8		
	$\bar{d}$	39,3	37,8	26,6	19,9

Tabelle 13

Volumenprozent (v_i) von Psol-Kristallen auf Tesafilm-Abrissen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

Tesafilm-Abriß Nr.		1	3	6	10
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse [μ] N	1084	253	290	159
	>5 - 25	37,3	42,6	52,7	69,0
	>25 - 55	28,5	43,7	44,6	23,6
	>55 - 75	19,6	4,4	2,7	7,3
	>75 - 95	11,3	3,2		
	>95 - 115	3,3	6,1		
d̄		42,8	35,8	27,5	24,6
10 Min. Einmassage	Teilchenklasse [μ] N	892	132	72	80
	>5 - 25	41,5	61,6	72,5	67,5
	>25 - 55	29,2	38,4	27,5	32,5
	>55 - 75	11,6			
	>75 - 95	14,4			
	>95 - 115	3,2			
d̄		41,2	24,6	21,9	23,2
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse [μ] N	2193	208	54	127
	>5 - 25	48,4	63,2	84,3	89,4
	>25 - 55	42,6	25,6	15,7	10,6
	>55 - 75	7,3	11,2		
	>75 - 95	1,7			
	>95 - 115				
d̄		30,5	27,0	18,9	17,6

Tabelle 14

Volumenprozentage (v_i) von Anaesthesin-Kristallen auf Tesafilm-Ab-
rissen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser
des mittleren Volumens ($\bar{d}$)

10 Min. Einwirkung	Tesafilm-Abriß Nr.		1	3	6	10
	Teilchenklasse [μ]	N	283	66	19	20
	>5 - 25		59,8	95,0	100,0	100,0
	>25 - 55		24,2	5,0		
10 Min. Einmassage	>55 - 75		16,1			
	$\bar{d}$		29,1	16,2	15,0	15,0
	Teilchenklasse [μ]	N	262	63	26	32
	>5 - 25		62,6	81,3	100,0	100,0
2 Std. Einwirkung	>25 - 55		16,0	18,7		
	>55 - 75		10,2			
	>75 - 95		11,2			
	$\bar{d}$		32,0	19,8	15,0	15,0
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse [μ]	N	1519	168	36	31
	>5 - 25		73,6	66,3	87,2	100,0
	>25 - 55		25,6	33,8	12,8	
	>55 - 75		0,8			
	$\bar{d}$		22,1	23,4	18,2	15,0

Tabelle 15

Volumenprozent (v_1) von Natriumcarbonat-Kristallen auf Tesafilm-Abrissen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

Tesafilm-Abriss Nr.		1	3	6	10
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse $\begin{matrix} \diagup N \\ \diagdown [\mu] \end{matrix}$	2112	167	78	82
	>5 - 25	27,5	51,5	52,5	37,4
	>25 - 55	51,0	48,6	47,5	62,6
	>55 - 75	11,7			
	>75 - 95	7,5			
	>95 - 115	2,3			
$\bar{d}$		40,0	27,1	26,9	30,7
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse $\begin{matrix} \diagup N \\ \diagdown [\mu] \end{matrix}$	1987	156	61	52
	>5 - 25	28,7	36,9	36,5	66,8
	>25 - 55	50,2	50,8	51,1	33,2
	>55 - 75	14,2	12,2	12,3	
	>75 - 95	7,0			
$\bar{d}$		39,5	33,8	34,0	23,3
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse $\begin{matrix} \diagup N \\ \diagdown [\mu] \end{matrix}$	9240	1462	352	105
	>5 - 25	40,7	54,0	82,7	62,3
	>25 - 55	41,9	38,4	15,4	37,7
	>55 - 75	10,6	4,4	1,9	
	>75 - 95	5,6	3,2		
	>95 - 115	1,2			
$\bar{d}$		35,8	29,1	19,9	24,5

Tabelle 16

Volumenprozent (v_i) von Marmorpulver-Kristallen auf Tesafilm-Abrissen in Abhängigkeit von der Teilchengröße und dem Durchmesser des mittleren Volumens($\bar{d}$).

Tesafilm-Abriß Nr.		1	3	6	10
10 Min. Einwirkung	Teilchenklasse $\begin{array}{c} N \\ \diagup \mu \end{array}$	2235	586	77	56
	>5 - 15	44,7	58,8	55,6	68,2
	>15 - 25	28,7	23,8	24,7	31,8
	>25 - 45	22,4	17,5	19,7	
	>45 - 65	4,2			
$\bar{d}$		20,4	16,8	17,4	13,2
10 Min. Einmassage	Teilchenklasse $\begin{array}{c} N \\ \diagup \mu \end{array}$	2377	525	129	54
	>5 - 15	44,9	56,3	56,4	59,3
	>15 - 25	29,9	26,6	25,3	24,2
	>25 - 45	22,0	17,1	18,4	16,5
	>45 - 65	3,2			
$\bar{d}$		19,9	16,9	17,1	16,5
2 Std. Einwirkung	Teilchenklasse $\begin{array}{c} N \\ \diagup \mu \end{array}$	7397	1698	276	150
	>5 - 15	53,8	62,6	65,9	42,9
	>15 - 25	28,6	28,1	27,5	27,6
	>25 - 45	17,3	9,3	6,6	29,5
	>45 - 65	0,3			
$\bar{d}$		17,3	15,1	14,4	18,1

2.1. Reproduzierbarkeit der Resultate, Prüfung der Differenz

Theoretisch müssen beim Vorliegen gleicher Versuchsbedingungen und unter Verwendung derselben Materialien in allen drei Versuchen bei gleichen Applikations-Zeiten und -Formen analoge Ergebnisse erzielt werden. Was die gleichen Versuchsbedingungen hier anbelangt, so ist herauszustellen, daß die entsprechenden Salben zwar immer auf die Unterarmhaut appliziert worden sind, jedoch hat es sich dabei um drei verschiedene Patienten gehandelt. Trotzdem sind die Resultate für jede Modellsubstanz übereinstimmend. Somit ist die Mittelung der Ergebnisse der drei Versuche gerechtfertigt.

Die Variabilität zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der Tesafilm-Abriß-Bestimmungen, die für jede Substanz aus den Tabellen 11 - 16 ersichtlich ist, beruht insbesondere auf der Messung in unterschiedlichen Hautniveaus bei gleichzeitiger Variierung der Applikations-Zeiten und -Formen.

Zur Beurteilung der Unterschiede zwischen den $\bar{d}$ -Werten der Tesafilm-Abrisse 1, 3, 6 und 10 als solchen sowie denen der einzelnen Applikations-Zeiten und -Formen auf Signifikanz oder Zufälligkeit erfolgt eine weitere statistische Untersuchung der in den Tabellen 11 - 16 vorliegenden Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$).

2.2. Streuungsbeurteilungen (doppelte Varianzanalysen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)

Die Variabilität bei den nachfolgenden Streuungszерlegungen (doppelten Varianzanalysen) wird durch drei Faktoren bestimmt,

die voneinander unabhängig sind und zugleich wirken: durch den Reiheneffekt (Tesa-film-Abrisse 1, 3, 6 und 10), den Spalteneffekt (Applikations-Zeiten und -Formen) und den Versuchsfehler.

Das Schema der doppelten Varianzanalyse³⁷⁾ für die Beobachtungswerte,

$$x_{ij} \quad [i = 1, 2, \dots, k; \quad j = 1, 2, \dots, n]$$

wobei k = die Anzahl der Reihen und n = die Anzahl der Spalten re-präsentieren, wird nachstehend aufgeführt

$$\text{mit:} \quad x_{i.} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n x_{ij}, \quad x_{.j} = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k x_{ij}$$

$$\text{und} \quad x_{..} = \frac{1}{nk} \sum_i \sum_j x_{ij};$$

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	Frei- heits- grade	Mittle- res Quadrat	$\hat{F}$
Zwischen den Reihen	$SS_A = n \sum_i (x_{i.} - x_{..})^2$	k-1	$A = \frac{SS_A}{k-1}$	$\hat{F}_A = \frac{A}{C}$
Zwischen den Spalten	$SS_B = k \sum_j (x_{.j} - x_{..})^2$	n-1	$B = \frac{SS_B}{n-1}$	$\hat{F}_B = \frac{B}{C}$
Versuchs- fehler	$SS_e = \sum_i \sum_j (x_{ij} - x_{i.} - x_{.j} + x_{..})^2$	(k-1)(n-1)	$C = \frac{SS_e}{(k-1)(n-1)}$	
Gesamt- variabilität	$SS_t = \sum_i \sum_j (x_{ij} - x_{..})^2$	nk-1		

Tabelle 17

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für KF 224

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	2381, 43	3	793, 81	46, 53	> 4, 76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	53, 44	2	26, 72	1, 57	< 5, 14
Versuchsfehler	102, 36	6	17, 06		
Gesamt- variabilität	2537, 22	11			

Tabelle 18

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für Tolnaftat

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	1139, 24	3	379, 75	47, 28	> 4, 76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	91, 82	2	45, 91	5, 72	> 5, 14
Versuchsfehler	48, 19	6	8, 03		
Gesamt- variabilität	1279, 25	11			

Tabelle 19

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für Psoil

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	511,41	3	170,47	18,32	> 4,76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	168,71	2	84,36	9,07	> 5,14
Versuchsfehler	55,83	6	9,30		
Gesamt- variabilität	735,95	11			

Tabelle 20

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für Anaesthesin

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	299,48	3	99,83	7,56	> 4,76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	5,29	2	2,64	0,20	< 5,14
Versuchsfehler	79,27	6	13,21		
Gesamt- variabilität	384,03	11			

Tabelle 21

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für Natriumcarbonat

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	298,59	3	99,53	5,61	> 4,76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	62,03	2	31,02	1,75	< 5,14
Versuchsfehler	106,47	6	17,74		
Gesamt- variabilität	467,09	11			

Tabelle 22

Varianzanalyse (Streuungszerlegung) für Marmorpulver

Variabilität	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Mittleres Quadrat	Streuungsverhältnis	
				$\hat{F}$	$F_{0.05}$
Zwischen den Reihen (Tesafilm-Ab- risse)	20,95	3	6,98	1,93	< 4,76
Zwischen den Spalten (Applikations- Dauer u. -Form)	3,79	2	1,89	0,52	< 5,14
Versuchsfehler	21,75	6	3,63		
Gesamt- variabilität	46,48	11			

Aus den vorliegenden Tabellen 17 - 22 sind die Unterschiede zwischen den Reihen, d.h. den $\bar{d}$ -Werten der Tesafilm-Abrisse 1, 3, 6 und 10 und denen der Spalten, nämlich der Applikationszeiten und -Formen abzulesen, das bedeutet, daß diese

für KF 224

zwischen den Reihen signifikant
und zwischen den Spalten zufällig sind.

für Tolnaftat

zwischen den Reihen
und zwischen den Spalten signifikant sind.

für Psoil

zwischen den Reihen
und zwischen den Spalten signifikant sind.

für Anaesthesin

zwischen den Reihen signifikant
und zwischen den Spalten zufällig sind.

für Natriumcarbonat

zwischen den Reihen signifikant
und zwischen den Spalten zufällig sind.

für Marmorpulver

zwischen den Reihen
und zwischen den Spalten zufällig sind.

3. Beziehung zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der jeweilig applizierten Salbe und denen der entsprechenden Tesafilm-Abrisse Nr. 1 sowie Prüfung der Differenz

Um die Beziehung zwischen den gemittelten $\bar{d}$ -Werten, der in den verwendeten Salben vorliegenden Kristall-Partikel, sofern mehrere Salben-Stichproben gemessen worden sind, und den ebenfalls gemittelten Durchmessern der zur entsprechenden Salbe gehörigen Tesafilm-Abrisse - Nr. 1, die in den Tabellen 11 - 16 aufgeführt sind, zu klären, müssen nochmals die Differenzen zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) untersucht werden.

Die dafür in Anwendung kommenden $\bar{d}$ -Werte, der in den Salben vorhandenen Modellsubstanzen, betragen für:

a) KF 224	$\bar{d} = 84,4 \text{ } \mu$
b) Tolnaftat	$\bar{d} = 41,0 \text{ } \mu$
c) Psoil	$\bar{d} = 39,6 \text{ } \mu$
d) Anaesthesin	$\bar{d} = 37,4 \text{ } \mu$
e) Natriumcarbonat	$\bar{d} = 39,7 \text{ } \mu$
f) Marmorpulver	$\bar{d} = 19,3 \text{ } \mu$

3.1. Streuungsbeurteilungen (einfache Varianzanalysen mit ungleichen Stichprobenumfängen) der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$)

Es ist anzunehmen, daß die Unterschiede zwischen den $\bar{d}$ -Werten der beiden jeweilig gegenübergestellten Meßreihen im Zufallsbereich liegen, da ein Salbenüberschuß auf die Haut appliziert worden ist.

Die nachfolgenden Ergebnisse der Streuungserlegungen³⁶⁾, durch-

geführt wie in III. 1.4., stützen diese Annahme:

1.) für KF 224

48.000000000 = SSB
46.160000000 = SSE
48.000000000 = A
23.080000000 = B
2.079722703 = $\hat{F}$
1.000000000 = k-1
2.000000000 = n-k

2.) für Tolnaftat

12.000000000 = SSE
49.140000000 = SSE
12.000000000 = A
24.570000000 = B
0.488400488 = $\hat{F}$
1.000000000 = k-1
2.000000000 = n-k

3.) für Psoil

1.540833330 = SSB
89.446666670 = SSE
1.540833330 = A
44.723333335 = B
0.034452560 = $\hat{F}$
1.000000000 = k-1
2.000000000 = n-k

4.) für Anaesthesin

70.083333330 = SSB
51.806666670 = SSE
70.083333330 = A
25.903333335 = B
2.705571998 = $\hat{F}$
1.000000000 = k-1
2.000000000 = n-k

5.) Natriumcarbonat

0.700833330	=	SSB
13.886666670	=	SSE
0.700833330	=	A
6.943333335	=	B
0.100936149	=	$\hat{F}$
1.000000000	=	k-1
2.000000000	=	n-k

6.) Marmorpulver

0.007500000	=	SSB
5.540000000	=	SSE
0.007500000	=	A
2.770000000	=	B
0.002707581	=	$\hat{F}$
1.000000000	=	k-1
2.000000000	=	n-k

Die Aufschlüsselung der Resultate ist III.1.4. zu entnehmen.

Danach beträgt das Streuungsverhältnis zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der 2 Meßreihen

für KF 224

$$\hat{F} = 2,08 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

für Tolnaftat

$$\hat{F} = 0,49 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

für Psoil

$$\hat{F} = 0,035 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

für Anaesthesin

$$\hat{F} = 2,71 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

für Natriumcarbonat

$$\hat{F} = 0,10 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

für Marmorpulver

$$\hat{F} = 0,0027 \quad < 18,51 = F_{(1; 2; 0,05)}$$

4. Graphische Darstellung von statistisch abgesicherten Resultaten

Die exemplarische graphische Darstellung in Bild 18, die die Unterschiede zwischen den erhaltenen Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{v}$) wiedergibt, dient lediglich zum besseren Verständnis dessen, was in III.2.2. und III.3.1. statistisch untersucht und abgesichert worden ist.

5. Beurteilung von Nativschnitten

Im Anschluß an die Durchmusterung der Nativschnitte und den dabei erstellten Photographien (Bilder 19 und 20) läßt sich ableiten, daß sowohl eine intracorneale Penetration, die in die transepidermale übergehen wird, als auch eine transfollikuläre Penetration vorliegen muß, da Kristalle nach Salbenapplikation nicht nur im Stratum corneum sondern ebenfalls in den Follikelöffnungen aufzufinden sind.

6. Beurteilung der raster-elektronen-mikroskopischen Untersuchungen

Auf Grund der Durchmusterung der raster-elektronen-mikroskopischen Präparate und der erstellten Aufnahmen ist es möglich, nachstehende Aussagen zu machen:

Die Bilder 21 und 22 der unbehandelten, normalen Haut decken sich völlig mit den vorliegenden raster-elektronen-mikroskopischen Ergebnissen von ORFANOS, CHRISTENHUSC und MAHRLE³⁸⁾, die die Hautoberfläche - wie folgt - beschreiben:

Die stark gefältete Hautoberfläche (Schrumpfungs-Artefakt?) wird durch tiefe Einschnitte (Hautlinien) unterbrochen. Sofern Haare

aus der Haut treten³⁹⁾, tun sie es aus Kratern. Stellenweise entspringen auch zwei Haare aus einem Krater. Durch einen klaffenden Spalt zwischen Haarschaft und Manschette kann man in den Follikelkanal hineinsehen.

Es ist anzunehmen, daß in der Follikelöffnung befindliche Kristalle durch den klaffenden Spalt in den Follikelkanal gelangen und weiter penetrieren.

Bei Bild 23 handelt es sich um eine Wiedergabe der Haut nach mechanischer Reinigung derselben vom Salbenüberschuß. Es zeigt sich, daß die leicht aufgerauhte Hautoberfläche, begünstigt durch ihre zahlreichen Einsenkungen, Salbengrundlage und Kristalle gut aufnimmt. Die Salbengrundlage, die eindeutig die Funktion einer weiteren Filmbildung auf der Haut annimmt, überdeckt Hautrelief sowie Kristalle.

Bild 24 stellt die Haut nach Entfernung der Salbengrundlage mit Xylol dar. Daraus geht hervor, daß Kristalle in den zahlreichen Einsenkungen vorzufinden sind.

Es ist anzunehmen, daß sie von dort durch die Nahtstellen der Hornzellen sowie deren Intercellular-Räume in tiefere Hornschichtlagen penetrieren.

IV. Diskussion

1. Teilchengrößenanalysen in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen

Wie gezeigt worden ist, kann die Teilchengröße kristalliner Substanzen unter den dargelegten experimentellen Bedingungen mit dem Quantimet (QTM) 720 auf befriedigende Weise bestimmt werden. Hervorzuheben ist dabei die wesentliche Zeiteinsparung gegenüber den Methoden, bei denen Kristall-Partikel nicht halb-automatisch ausgezählt und gemessen werden.

Die für eine Analyse benötigte Teilchenanzahl kann nicht fest angegeben werden. Beim Arbeiten mit den vorliegenden Substanzen liegt die Zahl der erfaßten Teilchen zwischen minimal 126 und maximal 3 858. Von dieser erfaßten Teilchenanzahl pro Stichprobe lassen sich die Durchmesser aus dem mittleren Volumen ($\bar{d}$) aller Gesamteilchen in guter Annäherung berechnen. Die Genauigkeit derselben nimmt natürlich mit steigender Teilchenanzahl bei der Zählung und Messung zu.

Es hat sich als günstig erwiesen, 20 Meßfelder zu Grunde zu legen.

Die Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der Modellsubstanzen sind in 3 Meßreihen ermittelt worden, wobei jeweils zwei auf die entsprechende Suspension und eine auf die Salbe entfallen. Diese Ergebnisse stellen eine Basis für die weitere Arbeit dar, da sie als Standard bezüglich des Kristallmaterials, insbesondere von demjenigen, das in den Salben vorliegt, dienen. Die statistische Beurteilung zwischen den $\bar{d}$ -Werten ergibt, daß nur das Anaesthesin, in Form einer Kristallverkleinerung durch die Salbenherstellung, eine Veränderung erfährt, die sich in einer signifikanten Variabili-

tät gegenüber den Ergebnissen der beiden Meßreihen, in denen das Anaesthesin in Glycerin suspendiert vorliegt, deutlich wird. Der signifikante Unterschied zwischen den Werten der 3 Meßreihen des Marmorpulvers dagegen hat eine andere Ursache. Die erste Meßreihe, die die Möglichkeit bietet, das gesamte Kristallmaterial zu erfassen, da eine Paraffin-Suspension desselben vorliegt, verdeutlicht, daß ein bedeutender Anteil dieser Substanz im Bereich von größer "0 bis 7 μ " vorliegt, der sich wiederum gegenüber den Ergebnissen der beiden restlichen Meßreihen in einer signifikanten Variabilität ausdrückt und den Sinn der Untersuchungen der Modellsubstanzen in Suspensionen besonders deutlich werden läßt, nämlich daß dadurch der Bereich beurteilt werden kann, der durch das Vorliegen der Substanzen in der in II. 1.1. beschriebenen Salbengrundlage nicht zu erfassen ist.

2. Teilchengrößenanalysen auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut

Auf Grund des Phänomens, daß die kristallinen Modellsubstanzen mit Hilfe eines Vehikels (Salbengrundlage) im Rahmen der gewählten Applikations-Zeiten und -Formen in die menschliche Hornhaut eindringen, was mit Hilfe der Tesafilm-Abrißmethode und unter Verwendung von polarisiertem Licht bei der Untersuchung der Tesafilm-Abrisse belegt wird, sind somit die Voraussetzungen zur Teilchengrößenbestimmung auf diesen erfüllt.

Die auf den Tesafilm-Abrissen ausgezählten Teilchenanzahlen sind abhängig von der Tesafilm-Abriß-Nummer, d. h. mit steigender Abriß-Nummer liegt eine stärkere Abtragung der Haut vor,

und es erfolgt ein Abfall der Teilchenanzahl. Die Partikelzahl, die nach Auftragung eines Salbenüberschusses auf die Haut in diese eingedrungen ist, hängt weiterhin von den Applikations-Zeiten und -Formen ab. Hinsichtlich einer Einwirkungszeit von 10 Min. und einer Einmassagezeit von gleichfalls 10 Min. zeigen die gefundenen Teilchenanzahlen der Tesafilm-Abrisse Nr. 1 keine gravierenden Unterschiede; einmal überwiegt die Teilchenanzahl der 10-minütigen Einwirkungszeit und ein anderes Mal die der 10-minütigen Einmassagezeit. Wesentlich höher dagegen liegt die Anzahl der ermittelten Kristalle nach einer 2-stündigen Einwirkungszeit. Vermutlich wird die Salbengrundlage schneller in die Haut penetrieren als es die suspendierten Teilchen vermögen, wodurch sich die Konzentrationszunahme der Kristall-Partikel auf der Hautoberfläche (Tesafilm-Abriß Nr. 1) erklären ließe.

Die Teilchengrößenbestimmungen der Tesafilm-Abrisse geben Auskunft über die Volumenverteilungen sowie die Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der Modellsubstanzen in der menschlichen Hornhaut.

Mit jeder Verbindung sind drei Versuche durchgeführt worden, bei denen dann eine Mittelung der Teilchenanzahlen, der Volumenprozent und der Durchmesser des mittleren Volumens ($\bar{d}$) erfolgt ist.

Die statistische Untersuchung der gemittelten $\bar{d}$ -Werte aus den Tabellen 11 - 16 ergibt, daß die Unterschiede zwischen den Durchmessern des mittleren Volumens ($\bar{d}$) der Tesafilm-Abrisse nur beim Marmorpulver zufällig sind, bei allen anderen Substanzen dagegen signifikant. Das besagt, daß die Teilchengröße der in die Haut eingedrungenen Kristalle nach Salbenapplikation gegenüber der in der jeweiligen Salbe vorliegenden Modellsubstanz senkrecht zur Hautoberfläche abnimmt. Das Marmorpulver zeigt keine signi-

fikanten Unterschiede, da dessen Teilchengröße gemäß Tabelle 10, ohnehin klein ist.

Nach GESTIRNER und ELSNER⁴⁰⁾ sind die physikalischen und chemischen Eigenschaften eines Arzneistoffes für die Penetration ein grundsätzlicher Faktor. Am leichtesten dringen nach deren Ansicht solche Stoffe in die Haut ein, die sowohl lipoidlöslich als auch in geringem Maße wasserlöslich sind.

Da die beiden genannten Komponenten den Verteilungskoeffizienten bestimmen, wird nachstehend für die in Anwendung gekommenen Substanzen Zahlenmaterial hinsichtlich deren Löslichkeit (bei Raumtemperatur) in Wasser und n-Octanol sowie deren Verteilungskoeffizienten aufgeführt. Daneben wird gleichzeitig für jede Verbindung (Tabelle 11 - 16) der Teilchenanteil, der von den sich auf der Hautoberfläche befindlichen Kristallen (Tesafilm-Abriß Nr. 1) in die Haut eingedrungen und auf dem 10. Tesafilm-Abriß auffindbar ist, angegeben.

Da die Löslichkeit von KF 224⁴¹⁾ und Tolnaftat⁴¹⁾ in Wasser und von Natriumcarbonat⁴²⁾ und Marmorpulver⁴³⁾ in n-Octanol sehr gering ist, sind die Verteilungskoeffizienten dieser Substanzen nicht bestimmt, sondern nur aus den Nachweisgrenzen abgeleitet worden. Die Löslichkeit für KF 224, Tolnaftat, Psoil⁴¹⁾ und Anaesthesin⁴¹⁾ in n-Octanol wurde auf Grund der beiden anderen bekannten Werte berechnet.

Zufolge der Aussage von GESTIRNER und ELSNER⁴⁰⁾ und des vorliegenden Zahlenmaterials für die in Anwendung gekommenen Substanzen überzeugen die experimentellen Befunde, wenn das Psoil und das Anaesthesin im Vergleich zum KF 224 und Tolnaftat sowie zum Natriumcarbonat und Marmorpulver eine höhere Penetrationsrate an in die Haut eingedrungenen Kristall-Partikeln (Tesa-

Tabelle 23

Substanz	Löslichkeit [mg/l]		Verteilungs- koeffizient P $\frac{c[n\text{-Octanol}]}{c[\text{Wasser}]}$	N_{10}/N_1		
	Wasser	n-Octanol		10 Min. Einwirkung	10 Min. Einmassage	2 Std. Einwirkung
KF 224	< 0, 8	1600	> 2000	0, 014	0, 018	0, 015
Tolnaftat	< 0, 3	600	> 2000	0, 014	0, 013	0, 0085
Psoil	980	129360	132	0, 15	0, 090	0, 058
Anaesthesin	9800	725200	74	0, 071	0, 12	0, 020
Natrium- carbonat	333000	< 10	< 0, 00003	0, 039	0, 026	0, 011
Calcium- carbonat	65	< 10	< 0, 15	0, 025	0, 023	0, 020

film-Abriß Nr. 10) aufweisen und sich gleichzeitig durch eine höhere Penetrationsgeschwindigkeit auszeichnen.

SCHULZE⁴⁴⁾ vertritt im Gegensatz zu GESTIRNER und ELSNER⁴⁰⁾ die Ansicht, daß lediglich die Lipoidlöslichkeit einer Substanz für deren Penetrationsvermögen verantwortlich ist, eine Wasserlöslichkeit dagegen nicht unbedingt erforderlich sei, da es eine Anzahl Verbindungen gibt, wie z. B. die organischen Lösungsmittel Benzin, Benzol und die aetherischen Öle, die wasserunlöslich sind, aber leicht in die Haut eindringen. Für diejenigen Substanzen, die sowohl lipoid- als auch wasserlöslich sind, gibt es keine feststehende Regel, wie groß maximal die Wasserlöslichkeit im Verhältnis zur Lipoidlöslichkeit sein muß, damit günstige Penetrationsbedingungen vorhanden sind. Die Salizylsäure z. B. ist sehr leicht in Fetten und organischen Lösungsmitteln, aber bei Raumtemperatur nur zu 0,2 % in Wasser löslich; das Phenol ist ebenfalls sehr leicht lipoidlöslich, andererseits besitzt es fast eine unbegrenzte Wasserlöslichkeit. Beide Substanzen dringen nach den Untersuchungen von SCHAEFER⁴⁵⁾ und SCHRAVEN⁴⁶⁾ nahezu gleich schnell in die Haut ein. SCHULZE⁴⁴⁾ folgert deshalb, daß der Verteilungskoeffizient keine zuverlässigen Aussagen erlaubt, sondern daß letzten Endes das Experiment entscheidend ist.

Die vorliegenden experimentellen Befunde der Kristall-Penetration belegen auch diese Aussage.

Ein weiterer Faktor für die Penetration stellt die Teilchengröße dar. Wie man aus den Resultaten (Tabelle 11 - 16) ersehen kann, ist auf den Tesafilm-Abrissen Nr. 10 nur noch der feine Kristallanteil der Modellsubstanzen vorhanden. Daraus ist zu schließen, daß Partikel mit einem kleinen Durchmesser des mittleren Vo-

lumens ($\bar{d}$), gegenüber solchen mit einem großen, tiefer in die Hornhaut penetrieren. Es ist weiterhin zu folgern, daß durch eine Erhöhung des Teilchendurchmessers, wenn gewünscht, ein Depot in den oberen Hornhautschichten angelegt werden kann, das von Fall zu Fall von wesentlichem Nutzen sein kann.

Erstaunlich ist, daß die Haut selbst durch sehr große Kristalle, wie sie beim KF 224 vorliegen, offensichtlich keine Verletzungen erleidet, wie auf Grund der raster-elektronen-mikroskopischen Befunde zu folgern ist, und daß diese Kristalle von der Haut auch nicht als Fremdkörper angesehen werden.

Es ist deshalb anzunehmen, daß generell Partikel aller Art, auch solche, die ohne Vehikel (Salbengrundlage) auf die Haut gebracht werden oder treffen, mit Hilfe des hauteigenen Lipoidfilmes eindringen, was nicht nur für die Anwendung dermatologischer Puder von ausschlaggebender Bedeutung ist.

3. In vitro - Befunde

Die in vitro - Befunde sind als weitere Absicherung der in vivo-Versuche zu beurteilen, da sie die in vivo - Ergebnisse bestätigen, einmal durch die nach Salbenapplikation erstellen Nativ-schnitte mit dem Gefriermikrotom und zum anderen durch die Schnitte für die Raster-Elektronen-Mikroskopie.

V. Zusammenfassung

1. Es werden Teilchengrößenbestimmungen mit dem Quantimet (QTM) 720 von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen und auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut durchgeführt.
2. Aus statistischen Ergebnissen ist zu schließen, daß die Auszählungsergebnisse, welche nach dem vorgegebenen Meßverfahren und der Technik erzielt werden, bis zu einem für die pharmazeutische und dermatologische Technologie genügenden Genauigkeitsgrad reproduzierbar sind.
3. Es wird festgestellt, daß Kristalle nach Salbenapplikation - in vivo - in die menschliche Hornhaut eindringen können. Aus den Ergebnissen ist zu folgern, daß die physikalisch-chemischen Eigenschaften eines kristallinen Wirkstoffes hinsichtlich der Penetrationsrate von ausschlaggebender Bedeutung sind. Die Partikelzahl, die in die Haut eindringt, ist weiterhin von den Applikations-Zeiten und -Formen abhängig und die Penetrationstiefe dabei von der Partikelgröße.
4. Nach Salbenapplikation auf extirpierter Haut werden Nativschnitte mit dem Gefriermikrotom und Schnitte für die Raster-Elektronen-Mikroskopie erstellt. Die Beurteilung der Schnitte bestätigt, daß sowohl eine intracorneale Penetration, die in die transepidermale übergehen wird, als auch eine transfollikuläre Penetration vorliegt.

VI. Literaturverzeichnis

- 1) Deutsches Arzneibuch (BDR), 7.
Ausgabe, 867
Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart und
Govi-Verlag GmbH, Frankfurt 1968
Deutsches Arzneibuch (DDR), 7.
Ausgabe, Bd. 1, XIV., 10. 0. 01
Pharmacopoea Helvetica, Editio
Sexta (Deutsche Ausgabe), Bd. 3,
659, Bern 1971
- 2) Rothman, St. Physiology and Biochemistry of the
Skin, Chicago 1955
- 3) Fleischer, R. Habilitationsschrift, Erlangen 1877
- 4) Schwenkenbecher, A. Arch. Anat. Physiol. 121 (1904)
- 5) MacKee, G. M. J. Lab. Clin. Med. 28, 1642 (1943)
Herrmann, F. Science 98, 66 (1943)
Baer, R. L.
Sulzberger, M. B.
- 6) Herrmann, F. Science 96, 451 (1942)
Sulzberger, M. B.
Baer, R. L.
- 7) Shelley, W. B. Fed. Proc. 6, 199 (1947)
Melton, F. M. J. Investig. Dermatol. 15, 343 (1950)
- 8) Miescher, G. Dermatologica 83, 50 (1941)
- 9) Borelli, S. Hautarzt 261 (1957)
Metzger, M.

- 10) Blank, I. H. Brit. J. Dermatol. 81, Suppl. 4,
Scheuplein, R. I. 4/10 (1969)
- 11) Wolf, I. Mikrosk. -Anatom. Forsch. 47,
 351 (1940)
- 12) Pinkus, H. J. Investig. Dermatol. 19, 431
 (1952)
- 13) Szakall, A. Fette, Seifen, Anstrichm. 774
 (1959)
- 14) Lorincz, A. J. Investig. Dermatol. 28, 275
 (1957)
- 15) Hediger, St. Klin. Wochenschr. 1553 (1928)
- 16) Bürgi, E. Die Durchlässigkeit der Haut für
 Arzneien und Gifte, Berlin 1942
- 17) Schulze, W. Arch. Klin. Exp. Dermatol. 205,
Reif, K. 53 (1957)
- 18) Goettsch, R. W. J. Amer. Pharm. Ass. (Pract.
Zopf, L. C. Pharm. Ed.) 17, 336 (1956)
- 19) ASTM Special Technical Publication
 Nr. 140, 72 (1952)
- 20) Heywood, H. Proc. Inst. Mech. Eng. 125, 383
 (1933)
- 21) Hamilton, R. J. Brit. J. Appl. Phys., Suppl. 3,
Holdsworth, J. F. 101/104 (1954)
Walton, W. H.
- 22) Watson, H. H. Brit. J. Appl. Phys., Suppl. 3,
Mulford, D. F. 105/108 (1954)
- 23) Herdan, G. Small Particle Statistics,
 2nd Edn., London 1960
- 24) Patterson, H. S. Trans. Faraday Soc. 32, 1084
Cawood, W. (1936)

- 25) Fairs, G. H. ref. in: H. S. Bean, A. H. Beckett
and I. E. Carless
Advances in Pharmaceutical Science,
Volume 2, 121, London and New
York 1967
- 26) British Standards Institution, Part
4 (1963)
- 27) Tawashi, R. Pharm. Acta Helv. 36, 397/411
Speiser, P. (1961)
- 28) Gebelein, H. Chem.-Ing.-Tech. Bd. 30 H. 9 S.
594/605 (1958)
- 29) Dudek, M. B. Radex Rundsch. 790/794 (1967)
- 30) Rose, A. Arch. Eisenhüttenw. 38, 460/463
Mathesius, H. A. (1967)
Hougardy, H. P.
- 31) Speiser, P. Galenik-Colloquium (Schering),
Berlin 1968
- 32) Peterson, E. E. ASTM Bull. 119, 70 (1952)
Walker, P. L.
Wright, C. C.
- 33) Macek, Th. J. U.S. Patent 2671750 (1954)
- 34) Hoerl jr., A. E. Chemical Business Handbook
Arthur, B. New York, London, Toronto
(1954)
- 35) Krumbein, W. C. J. Sediment. Petrology 4, 65 (1934)
- 36) Barthakur, P. Wang 700 Series Program Package,
Volume 9, Part 1, 6 (1971)
- 37) Barthakur, P. Wang 700 Series Program Package,
Volume 9, Part. 1, 12 (1971)
- 38) Orfanos, C. Arch. Klin. Experim. Dermatol.
Christenhusz, R. 235, 284/294 (1969)
Mahrle, G.

- 39) Mahrle, G. Arch. Klin. Exp. Dermatol. 235,
Christenhusz, R. 295/300 (1969)
Orfanos, C.
- 40) Gestirner, F. Arzneim.-Forsch. 14, 281 (1964)
Elsner, R.
- 41) Auf Grund freundlicher Mitteilung
von Herrn Dr. A. Reuter, Biberach
an der Riss, Dr. Karl Thomae GmbH
- 42) Index Merck, 9. Auflage,
Darmstadt 1961
- 43) Stephen, H. Solubilities of Inorganic and Organic
Stephen, T. Compounds, Volume I, Part 1,
247, Oxford, London, New York,
Paris 1963
Merck Standards,
Darmstadt 1971
- 44) Schulze, W. in: H. A. Gottron und W. Schönfeld,
Dermatologie und Venerologie I/1,
213, Stuttgart 1961
- 45) Schaefer, I. Dissertation, Freiburg i. Br. 1953
- 46) Schraven, K. Dissertation, Freiburg i. Br. 1953

ANHANG

VII. Tabellarische Geradenzusammenstellung

Die Tabellen 24 - 30 beinhalten die Regressionsgeraden, wie in III.1.2. beschrieben, aller analysierten Stichproben der Modellsubstanzen in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen.

Anschließend werden die Regressionsgeraden in den Tabellen 31 - 36 der Tesafilm-Abriß-Bestimmungen aufgeführt, sofern die Anzahl n der Beobachtungspaare noch 3 beträgt.

Bei der Anpassung der Meßdaten an die vorliegende Funktion handelt es sich um ein reines Regressionsproblem, da $\frac{1}{d_i}$ die unabhängige und $\lg n_i$ die abhängige Variable repräsentiert. Die Angabe eines Korrelationskoeffizienten ist somit nicht gegeben.

Beträgt die Anzahl n der Beobachtungspaare nur noch 2, so sind nach III.2. Geradengleichungen ermittelt worden, die in den Tabellen 37 - 42 vorliegen.

Tabelle 24

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$			
<u>KF 224</u>				
Meßreihe 1				
1	y = +	0,22	+	20,86 z
2	y = -	0,01	+	24,67 z
3	y = -	0,21	+	29,32 z
4	y = -	0,18	+	28,67 z
Meßreihe 2				
1	y = -	0,33	+	60,71 z
2	y = -	0,43	+	70,48 z
3	y = -	0,23	+	56,67 z
4	y = -	0,99	+	88,28 z
5	y = -	0,82	+	80,72 z
Meßreihe 3				
1	y = -	0,89	+	91,10 z
2	y = -	0,74	+	84,48 z

Tabelle 25

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$
<u>Tolnaftat</u>	
Meßreihe 1	
1	$y = - 0,43 + 10,17 z$
2	$y = - 0,44 + 10,04 z$
Meßreihe 2	
1	$y = - 0,85 + 24,29 z$
Meßreihe 3	
1	$y = - 0,37 + 30,20 z$

Tabelle 26

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$			
<u>Psoil</u>				
Meßreihe 1				
1	y	= -	0,05 +	11,01 z
2	y	= +	0,14 +	9,01 z
3	y	= +	0,32 +	8,16 z
Meßreihe 2				
1	y	= +	0,97 +	35,94 z
2	y	= -	0,61 +	32,74 z
3	y	= -	0,40 +	28,68 z
4	y	= -	1,27 +	42,91 z
Meßreihe 3				
1	y	= -	1,10 +	39,89 z

Tabelle 27

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$
<u>Cignolin</u>	
Meßreihe 1	
1	$y = - 0,26 + 6,87 z$
2	$y = - 0,34 + 7,05 z$
3	$y = - 0,40 + 7,02 z$
4	$y = - 0,64 + 9,13 z$
5	$y = - 0,59 + 9,99 z$
Meßreihe 2	
1	$y = - 0,68 + 19,07 z$
2	$y = - 0,60 + 17,01 z$
3	$y = - 0,51 + 16,30 z$
Meßreihe 3	
1	$y = - 0,57 + 26,52 z$
2	$y = - 0,38 + 18,52 z$
3	$y = - 0,65 + 23,20 z$

Tabelle 28

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd.Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$
<u>Anaesthesin</u>	
Meßreihe 1	
1	$y = - 0,22 + 8,21 z$
2	$y = + 0,03 + 8,47 z$
3	$y = - 0,20 + 7,61 z$
Meßreihe 2	
1	$y = - 0,55 + 18,91 z$
2	$y = - 0,66 + 21,62 z$
3	$y = - 0,29 + 19,68 z$
Meßreihe 3	
1	$y = - 0,15 + 16,66 z$
2	$y = - 1,18 + 34,30 z$
3	$y = - 0,54 + 25,77 z$

Tabelle 29

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$
<u>Natriumcarbonat</u>	
Meßreihe 1	
1	$y = - 0,07 + 6,14 z$
Meßreihe 2	
1	$y = - 0,62 + 18,45 z$
2	$y = - 0,95 + 25,26 z$
3	$y = - 0,52 + 17,61 z$
Meßreihe 3	
1	$y = - 0,42 + 27,41 z$

Tabelle 30

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln in pharmazeutisch-technologischen Zubereitungen)

Lfd. Nr. der Stichproben	$\hat{y} = u + v \cdot z$			
<u>Marmorpulver</u>				
Meßreihe 1				
1	y = -	0,58	+	14,44 z
2	y = -	0,39	+	13,41 z
3	y = -	0,20	+	12,37 z
4	y = -	0,92	+	16,20 z
5	y = -	0,29	+	12,92 z
6	y = -	0,46	+	13,91 z
7	y = -	0,38	+	13,39 z
8	y = -	0,76	+	16,13 z
9	y = -	0,96	+	16,50 z
10	y = -	0,65	+	15,62 z
11	y = -	0,56	+	14,00 z
Meßreihe 2				
1	y = -	0,65	+	20,16 z
2	y = -	0,56	+	20,24 z
3	y = -	0,58	+	19,95 z
4	y = -	0,75	+	20,97 z
5	y = -	0,88	+	22,10 z
6	y = -	1,37	+	26,23 z
7	y = -	0,44	+	16,94 z
Meßreihe 3				
1	y = -	0,48	+	19,00 z
2	y = -	0,69	+	19,26 z
3	y = -	0,75	+	21,04 z

Tabelle 31

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm- Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$			
<u>KF 224</u>					
Versuch A B C					
10 Min. Einwirkung	1 A	y =	- 0,81	+	23,82 z
" "	1 B	y =	- 1,31	+	41,19 z
" "	1 C	y =	- 1,44	+	41,40 z
" "	3 B	y =	- 1,56	+	27,40 z
10 Min. Einmassage	1 A	y =	- 1,45	+	35,50 z
" "	1 B	y =	- 1,13	+	37,73 z
" "	1 C	y =	- 1,23	+	39,83 z
" "	3 C	y =	- 1,83	+	29,54 z
2 Std. Einwirkung	1 A	y =	- 0,70	+	34,83 z
" "	1 B	y =	- 0,49	+	34,22 z
" "	1 C	y =	- 1,11	+	44,32 z
" "	3 A	y =	- 2,14	+	45,21 z
" "	3 B	y =	- 1,30	+	32,24 z
" "	3 C	y =	- 1,55	+	42,89 z
" "	6 C	y =	- 1,85	+	30,23 z

Tabelle 32

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abbrisen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm- Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$				
<u>Tolnaftat</u>						
Versuch D E F						
10 Min. Einwirkung	1 D	y =	- 1,78	+	49,38 z	
" "	1 E	y =	- 2,13	+	51,59 z	
" "	1 F	y =	- 2,03	+	54,45 z	
" "	3 D	y =	- 1,96	+	30,63 z	
" "	3 E	y =	- 2,39	+	45,34 z	
" "	3 F	y =	- 2,33	+	41,19 z	
" "	6 D	y =	- 2,87	+	32,76 z	
10 Min. Einmassage	1 D	y =	- 1,96	+	53,02 z	
" "	1 E	y =	- 2,09	+	53,60 z	
" "	1 F	y =	- 2,33	+	54,65 z	
" "	3 D	y =	- 2,35	+	38,06 z	
" "	3 E	y =	- 1,96	+	31,00 z	
" "	3 F	y =	- 2,48	+	39,33 z	
2 Std. Einwirkung	1 D	y =	- 1,04	+	48,25 z	
" "	1 E	y =	- 1,70	+	48,74 z	
" "	1 F	y =	- 1,84	+	54,91 z	
" "	3 D	y =	- 2,24	+	52,70 z	
" "	3 E	y =	- 2,61	+	48,15 z	
" "	3 F	y =	- 2,70	+	53,56 z	

Tabelle 33

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm- Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$		
		<u>Psoil</u>		
		Versuch G H I		
10 Min. Einwirkung	1 G	y =	- 1,68	+ 44,90 z
" "	1 H	y =	- 2,29	+ 35,75 z
" "	1 I	y =	- 2,36	+ 46,92 z
" "	3 G	y =	- 2,47	+ 46,72 z
" "	6 G	y =	- 2,76	+ 52,04 z
10 Min. Einmassage	1 G	y =	- 2,30	+ 38,35 z
" "	1 H	y =	- 2,21	+ 46,66 z
2 Std. Einwirkung	1 G	y =	- 1,83	+ 51,24 z
" "	1 I	y =	- 2,15	+ 44,11 z

Tabelle 34

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm- Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$				
<u>Anaesthesin</u>						
Versuch J K L						
10 Min. Einwirkung	1 J	y	=	- 2,49	+	30,30 z
" "	1 L	y	=	- 2,65	+	46,55 z
10 Min. Einmassage	1 J	y	=	- 2,42	+	32,66 z
2 Std. Einwirkung	1 J	y	=	- 2,58	+	57,50 z

Tabelle 35

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$			
<u>Natriumcarbonat</u>					
Versuch M N O					
10 Min. Einwirkung	1 M	y =	- 1,94	+	51,15 z
" "	1 N	y =	- 1,74	+	40,90 z
" "	1 O	y =	- 2,20	+	51,49 z
10 Min. Einmassage	1 M	y =	- 1,73	+	47,10 z
" "	1 N	y =	- 1,86	+	44,23 z
" "	1 O	y =	- 1,98	+	48,18 z
" "	3 M	y =	- 2,54	+	37,66 z
" "	3 N	y =	- 2,54	+	40,43 z
" "	6 N	y =	- 2,73	+	36,43 z
2 Std. Einwirkung	1 M	y =	- 1,78	+	58,40 z
" "	1 N	y =	- 1,23	+	49,32 z
" "	1 O	y =	- 2,17	+	51,25 z
" "	3 M	y =	- 2,49	+	52,94 z
" "	3 N	y =	- 1,82	+	47,37 z
" "	6 N	y =	- 2,48	+	48,11 z

Tabelle 36

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Regressionsgeraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abdrucken von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$\hat{y} = u + v \cdot z$				
<u>Marmorpulver</u>						
Versuch P Q R						
10 Min. Einwirkung	1 P	y =	-	2,54	+	36,56 z
" "	1 Q	y =	-	1,94	+	32,96 z
" "	1 R	y =	-	1,04	+	23,51 z
" "	3 P	y =	-	2,74	+	33,37 z
" "	3 Q	y =	-	2,20	+	27,61 z
" "	3 R	y =	-	2,29	+	28,23 z
" "	6 Q	y =	-	3,01	+	27,91 z
" "	6 R	y =	-	2,55	+	23,43 z
10 Min. Einmassage	1 P	y =	-	1,96	+	31,25 z
" "	1 Q	y =	-	1,43	+	24,39 z
" "	1 R	y =	-	1,57	+	30,56 z
" "	3 P	y =	-	2,59	+	31,34 z
" "	3 Q	y =	-	3,01	+	34,62 z
" "	3 R	y =	-	1,83	+	24,29 z
" "	6 P	y =	-	3,04	+	25,15 z
" "	6 Q	y =	-	2,59	+	27,91 z
" "	10 R	y =	-	2,54	+	20,66 z
2 Std. Einwirkung	1 P	y =	-	1,21	+	27,78 z
" "	1 Q	y =	-	1,46	+	31,34 z
" "	1 R	y =	-	2,02	+	41,29 z
" "	3 P	y =	-	2,70	+	37,31 z
" "	3 Q	y =	-	2,15	+	31,19 z
" "	3 R	y =	-	1,91	+	31,15 z
" "	6 Q	y =	-	2,68	+	28,85 z
" "	10 P	y =	-	2,64	+	26,84 z
" "	10 Q	y =	-	2,48	+	21,14 z
" "	10 R	y =	-	2,53	+	25,83 z

Tabelle 37

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	y = a x + b				
<u>KF 224</u>						
Versuch A B C						
10 Min. Einwirkung	3 A	y	=	- 0,0061 x	+	0,49
" "	3 C	y	=	- 0,0084 x	+	0,64
" "	6 A	y	=	- 0,0013 x	+	0,09
" "	6 B	y	=	- 0,0063 x	+	0,44
" "	6 C	y	=	- 0,0029 x	+	0,19
" "	10 A	y	=	- 0,0014 x	+	0,10
" "	10 B	y	=	- 0,005 x	+	0,35
" "	10 C	y	=	- 0,0031 x	+	0,21
10 Min. Einmassage	3 A	y	=	- 0,0093 x	+	0,67
" "	3 B	y	=	- 0,018 x	+	1,35
" "	6 A	y	=	- 0,0031 x	+	0,21
" "	6 B	y	=	- 0,006 x	+	0,42
" "	6 C	y	=	- 0,0044 x	+	0,30
" "	10 A	y	=	- 0,0012 x	+	0,11
" "	10 B	y	=	- 0,0044 x	+	0,30
" "	10 C	y	=	- 0,0085 x	+	0,56
2 Std. Einwirkung	6 A	y	=	- 0,01 x	+	0,71
" "	6 B	y	=	- 0,015 x	+	1,09
" "	10 A	y	=	- 0,0051 x	+	0,36
" "	10 B	y	=	- 0,0099 x	+	0,70
" "	10 C	y	=	- 0,019 x	+	1,34

Tabelle 38

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	y = a x + b			
<u>Tolnaftat</u>					
Versuch D E F					
10 Min. Einwirkung	6 E	y =	- 0,014 x	+	0,58
" "	6 F	y =	- 0,011 x	+	0,43
" "	10 E	y =	- 0,0086 x	+	0,37
" "	10 F	y =	- 0,0093 x	+	0,39
10 Min. Einmassage	6 D	y =	- 0,021 x	+	1,09
" "	6 E	y =	- 0,011 x	+	0,49
" "	6 F	y =	- 0,014 x	+	0,57
2 Std. Einwirkung	6 D	y =	- 0,021 x	+	0,85
" "	6 E	y =	- 0,019 x	+	0,76
" "	6 F	y =	- 0,031 x	+	1,29
" "	10 E	y =	- 0,011 x	+	0,44
" "	10 F	y =	- 0,022 x	+	0,91

Tabelle 39

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$y = a \cdot x + b$			
<u>Psoil</u>					
Versuch G H I					
10 Min. Einwirkung	3 H	y =	- 0,20	x +	0,84
" "	3 I	y =	- 0,027	x +	1,13
" "	6 H	y =	- 0,013	x +	0,56
" "	6 I	y =	- 0,018	x +	0,74
" "	10 H	y =	- 0,017	x +	0,68
10 Min. Einmassage	1 I	y =	- 0,351	x +	14,18
" "	3 G	y =	- 0,032	x +	1,29
" "	3 H	y =	- 0,045	x +	1,83
" "	3 I	y =	- 0,013	x +	0,55
" "	6 G	y =	- 0,024	x +	0,99
" "	6 H	y =	- 0,020	x +	0,83
" "	10 G	y =	- 0,034	x +	1,39
" "	10 I	y =	- 0,0057	x +	0,25
2 Std. Einwirkung	1 H	y =	- 0,28	x +	11,46
" "	3 G	y =	- 0,078	x +	3,13
" "	3 H	y =	- 0,035	x +	1,42
" "	6 G	y =	- 0,024	x +	0,97
" "	6 H	y =	- 0,0098	x +	0,40
" "	10 G	y =	- 0,077	x +	3,11

Tabelle 40

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$y = a \cdot x + b$			
<u>Anaesthesin</u>					
Versuch J K L					
10 Min. Einwirkung	3 L	y	= - 0,025	x + 1,03	
10 Min. Einmassage	1 L	y	= - 0,76	x + 3,07	
" "	3 J	y	= - 0,0033	x + 0,14	
2 Std. Einwirkung	1 K	y	= - 0,39	x + 15,97	
" "	1 L	y	= - 0,12	x + 4,94	
" "	3 J	y	= - 0,08	x + 3,21	
" "	3 K	y	= - 0,033	x + 1,34	
" "	3 L	y	= - 0,0047	x + 0,20	
" "	6 J	y	= - 0,0069	x + 0,29	

Tabelle 41

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$y = y \cdot x + b$				
<u>Natriumcarbonat</u> Versuch M N O						
10 Min. Einwirkung	3 M	y	= -	0,034	x +	1,40
" "	3 N	y	= -	0,026	x +	1,05
" "	3 O	y	= -	0,046	x +	1,99
" "	6 M	y	= -	0,016	x +	0,67
" "	6 N	y	= -	0,022	x +	0,91
" "	6 O	y	= -	0,014	x +	0,58
" "	10 M	y	= -	0,013	x +	0,58
" "	10 N	y	= -	0,023	x +	0,97
" "	10 O	y	= -	0,015	x +	0,64
10 Min. Einmassage	3 O	y	= -	0,021	x +	0,90
" "	6 M	y	= -	0,012	x +	0,52
" "	6 O	y	= -	0,007	x +	0,31
" "	10 M	y	= -	0,014	x +	0,57
" "	10 N	y	= -	0,015	x +	0,59
" "	10 O	y	= -	0,0097	x +	0,40
2 Std. Einwirkung	3 O	y	= -	0,058	x +	2,33
" "	10 M	y	= -	0,019	x +	0,77
" "	10 N	y	= -	0,034	x +	1,40
" "	10 O	x	= -	0,018	x +	0,72

Tabelle 42

Abhängigkeit der Teilchenhäufigkeit vom zugehörigen Teilchendurchmesser

Geraden

(Teilchengrößenanalysen von Kristall-Partikeln auf Tesafilm-Abrissen von der menschlichen Hornhaut)

Applikations- Zeit und -Form	Tesafilm Abriß Nr. des Ver- suches	$y = a x + b$				
		<u>Marmorpulver</u>				
		Versuch P Q R				
10 Min. Einwirkung	6 P	y	=	- 0,011	x + 0,21	
" "	10 P	y	=	- 0,0077	x + 0,16	
" "	10 Q	y	=	- 0,036	x + 0,76	
" "	10 R	y	=	- 0,047	x + 0,95	
10 Min. Einmassage	6 R	y	=	- 0,033	x + 0,68	
" "	10 P	y	=	- 0,017	x + 0,35	
" "	10 Q	y	=	- 0,039	x + 0,79	
2 Std. Einwirkung	6 P	y	=	- 0,098	x + 2,02	
" "	6 R	y	=	- 0,21	x + 4,29	

VIII. Bildteil

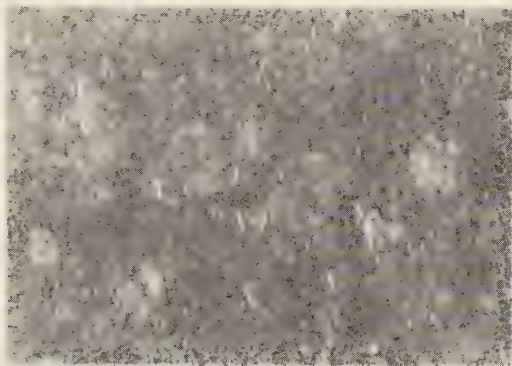


Bild 1 Salbengrundlage
V = 170fach



Bild 2 KF 224-Salbe 5 %ig
V = 25fach



Bild 3 Tolnaftat-Salbe 5 %ig
V = 65fach



Bild 4 Psoil-Salbe 5 %ig
V = 65fach

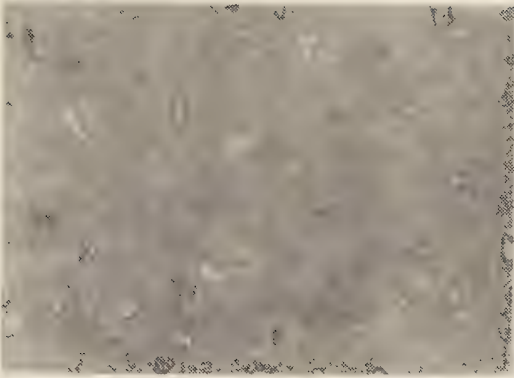


Bild 5 Cignolin-Salbe 5 %ig
V = 45fach



Bild 6 Anaesthesin-Salbe 5 %ig
V = 45fach



Bild 7 Natriumcarbonat-Salbe 5 %ig
V = 45fach

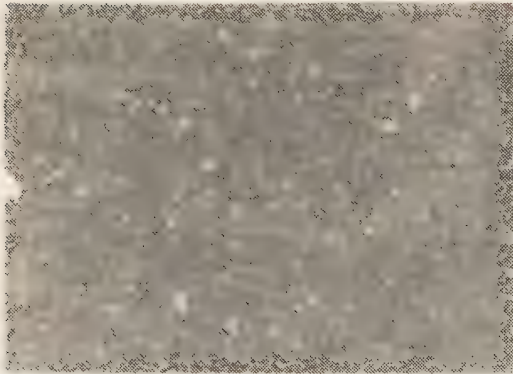


Bild 8 Marmorpulver-Salbe 5 %ig
V = 65fach

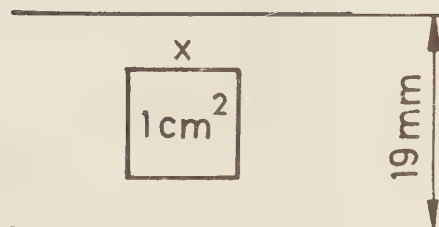


Bild 9 Vergrößertes Stempelprofil

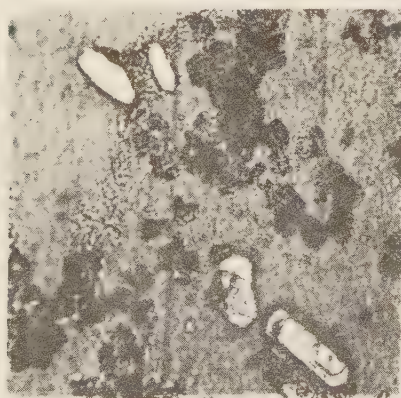
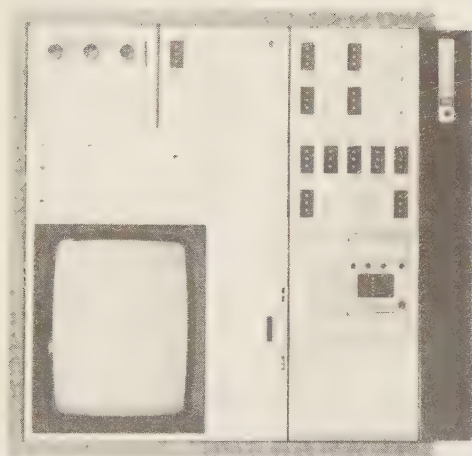
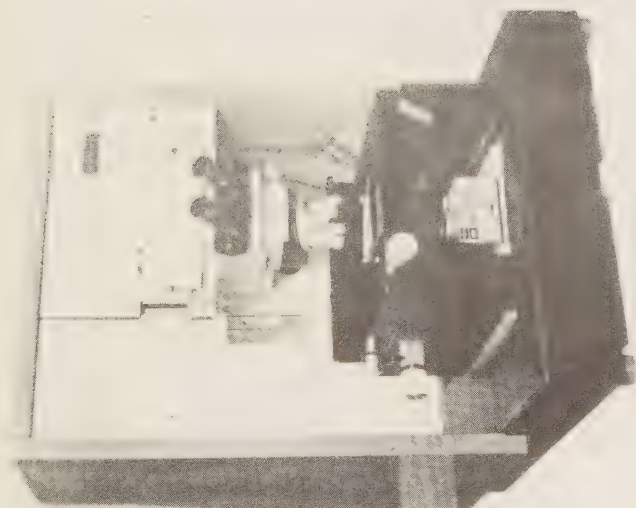


Bild 10 Polarisationsmikroskopischer
Nachweis von KF 224-Kristal-
len auf einem Tesafilm-Abriß
von der menschlichen Horn-
haut





Bild 11 Vergrößertes Patterson-Cawood-Schema



Bilder 12 a und b Quantimet (QTM) 720

DETECTOR		COMPUTER		MULTI ACC. &/OR SIZE DISTRIB.		TELETYPE		ACC'R	
SELECT	1 2 3 4	F	G	H	I	J	K	L	M
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X
B	X	X	X	X	X	X	X	X	X
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X
F	X	X	X	X	X	X	X	X	X
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X
H	X	X	X	X	X	X	X	X	X
I	X	X	X	X	X	X	X	X	X
J	X	X	X	X	X	X	X	X	X
K	X	X	X	X	X	X	X	X	X
L	X	X	X	X	X	X	X	X	X
M	X	X	X	X	X	X	X	X	X
N	X	X	X	X	X	X	X	X	X
O	X	X	X	X	X	X	X	X	X
P	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Q	X	X	X	X	X	X	X	X	X
R	X	X	X	X	X	X	X	X	X
S	X	X	X	X	X	X	X	X	X
T	X	X	X	X	X	X	X	X	X
U	X	X	X	X	X	X	X	X	X
V	X	X	X	X	X	X	X	X	X
W	X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Y	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Z	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+	X	X	X	X	X	X	X	X	X
0	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	X	X	X	X	X	X	X	X	X
3	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4	X	X	X	X	X	X	X	X	X
5	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6	X	X	X	X	X	X	X	X	X
7	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8	X	X	X	X	X	X	X	X	X
9	X	X	X	X	X	X	X	X	X
10	X	X	X	X	X	X	X	X	X
11	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12	X	X	X	X	X	X	X	X	X
13	X	X	X	X	X	X	X	X	X
14	X	X	X	X	X	X	X	X	X
15	X	X	X	X	X	X	X	X	X
16	X	X	X	X	X	X	X	X	X
17	X	X	X	X	X	X	X	X	X
18	X	X	X	X	X	X	X	X	X
19	X	X	X	X	X	X	X	X	X
20	X	X	X	X	X	X	X	X	X
21	X	X	X	X	X	X	X	X	X
22	X	X	X	X	X	X	X	X	X
23	X	X	X	X	X	X	X	X	X
24	X	X	X	X	X	X	X	X	X
25	X	X	X	X	X	X	X	X	X
26	X	X	X	X	X	X	X	X	X
27	X	X	X	X	X	X	X	X	X
28	X	X	X	X	X	X	X	X	X
29	X	X	X	X	X	X	X	X	X
30	X	X	X	X	X	X	X	X	X
31	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Bild 13 Programmirtes Programmierbrett des QTM 720

1	2	3	4	5	6	Nr. des Klassifizierungskanals Einstellung in Bildpunkten Einstellung in μ Vergrößerung : 50fach Substanz : KF 224
>20	>40	>60	>80	>100	>120	
>25	>50	>75	>100	>125	>150	
00031 19 00012	7 00005	3 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
00029 15 00014	10 00004	2 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
00039 22 00017	11 00006	4 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
00038 26 00012	7 00005	3 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00035 23 00012	7 00005	2 00003	2 00001	0 00001	1 00001	1
00037 20 00017	6 00011	7 00004	3 00001	1 00000	0 00000	0
00037 20 00017	7 00010	7 00003	2 00001	1 00000	0 00000	0
00034 17 00017	8 00009	7 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
00041 24 00017	8 00009	7 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00035 20 00015	8 00007	5 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
00037 23 00014	9 00005	2 00003	2 00001	0 00001	1 00001	1
00033 16 00017	6 00011	9 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00031 17 00014	5 00009	7 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00039 25 00014	5 00009	8 00001	1 00000	0 00000	0 00000	0
00036 24 00012	6 00006	5 00001	0 00001	1 00000	0 00000	0
00036 21 00015	7 00008	5 00003	2 00001	1 00000	0 00000	0
00038 22 00016	9 00007	4 00003	1 00002	1 00001	1 00001	1
00031 17 00014	3 00011	9 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00030 18 00012	3 00009	7 00002	1 00001	1 00001	1 00000	0
00037 25 00012	5 00007	5 00002	2 00000	0 00000	0 00000	0
414	137	108	31	11	3	

Bild 14 Meßblatt einer Teilchengrößenanalyse von KF 224



Bild 15 Darstellung der Regressionsgeraden ($\hat{y} = u + v \cdot z$) für die in Tabelle 1, 2 und 3 aufgeführten Werte

0 ————— 0 = 1
 ● ———— ● = 2
 Δ — · — · — Δ = 3

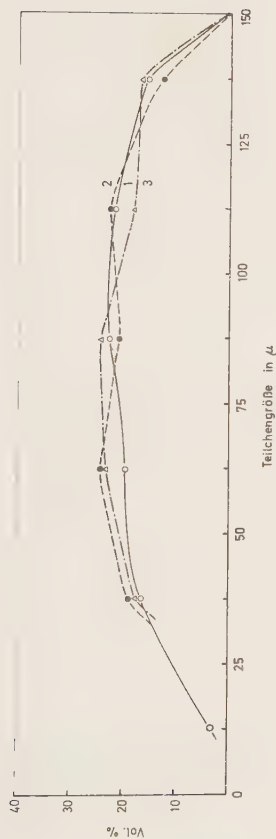


Bild 16 Darstellung der Verteilungsdichtekurven für die in Tabelle 1, 2 und 3 aufgeführten Werte

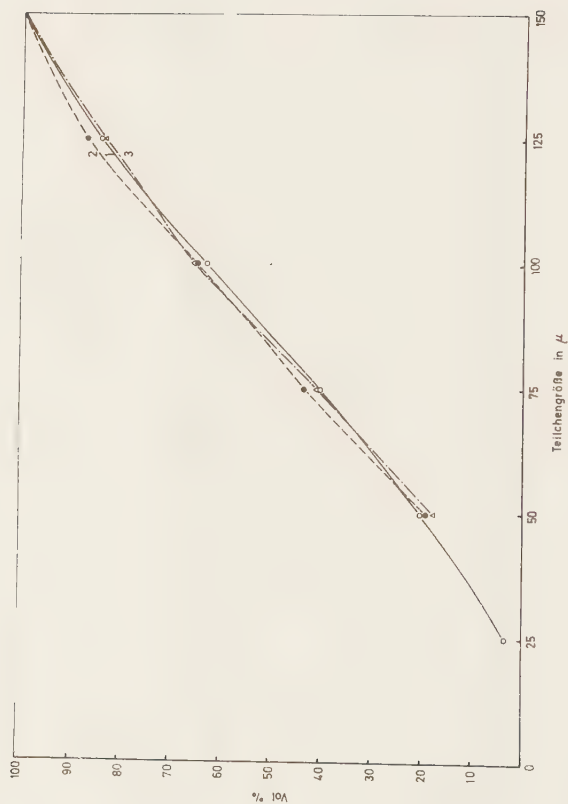


Bild 17 Darstellung der Verteilungssummenkurven für die in Tabelle 1, 2 und 3 aufgeführten Werte

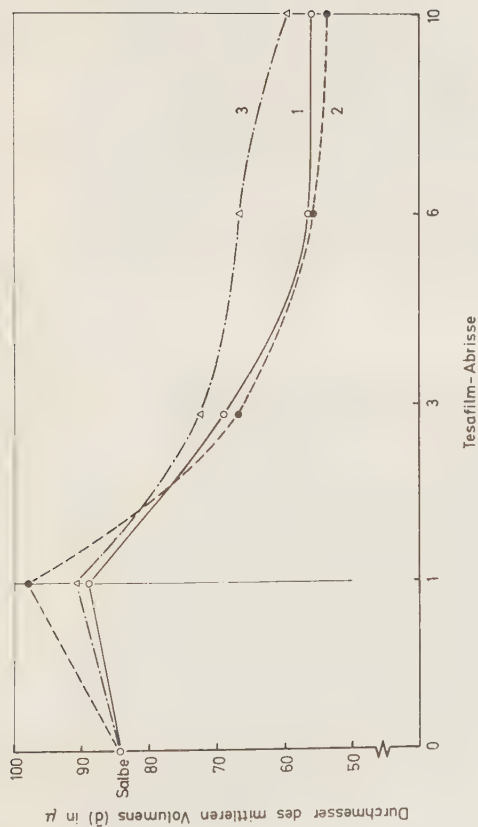


Bild 18 Darstellung des gemittelten Durchmessers des mittleren Volumens (d) von KF 224 in der Salbe und den gemittelten Durchmessern auf den Tesafilm-Abrissen 1, 3, 6 und 10 der menschlichen Hornhaut nach sich unterscheidenden Applikations-Zeiten und -Formen

- 1 = 10 Min. Einwirkung
- 2 = 10 Min. Einmassage
- 3 = 2 Std. Einwirkung



Bild 19 Polarisationsmikroskopischer Nachweis von
KF 224-Kristallen im Stratum corneum
V = 160fach



Bild 20 Polarisationsmikroskopischer Nachweis von
KF 224-Kristallen in einer Follikelöffnung
V = 160fach

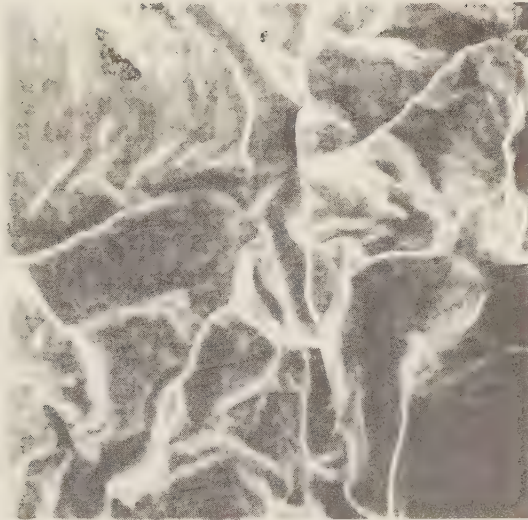


Bild 21 Normale, unbehandelte Hautoberfläche im Raster-Elektronen-Mikroskop
V = 140fach

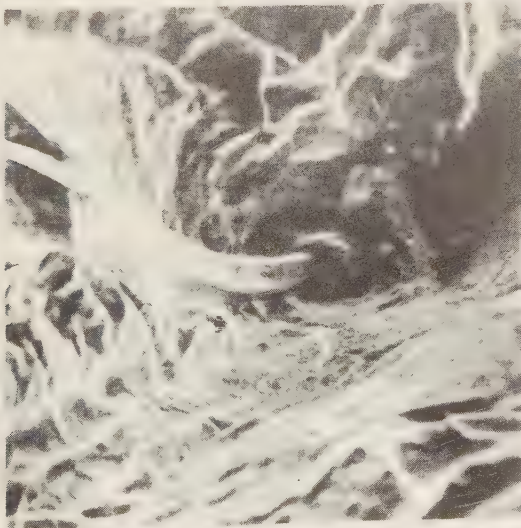


Bild 22 Normale, unbehandelte Hautoberfläche mit Haar-
austrittsstelle und Haarschäften im Raster-Elek-
tronen-Mikroskop
V = 130fach



Bild 23 Normale Haut nach Applikation von KF 224-Salbe
im Raster-Elektronen-Mikroskop
V = 700fach

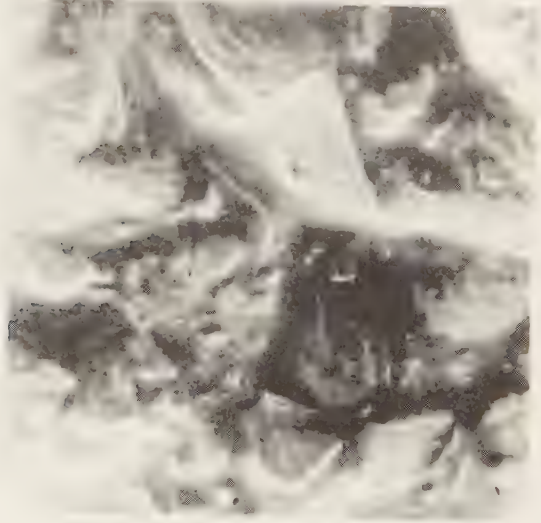


Bild 24 Normale Haut nach Applikation von KF 224-Salbe
und anschließender Entfernung der Salbengrund-
lage mit Xylol im Raster-Elektronen-Mikroskop
V = 90fach

Lebenslauf

Geburtsdatum: 25. September 1940

Geburtsort: Fulda

Eltern: Wilhelm Wolter und Hildegard Wolter, geb. Mehr

Schulbildung: Herbst 1946 bis Ostern 1951 Grundschule in Fulda, Ostern 1951 bis Ostern 1958 Marienschule (Realgymnasium) Fulda
Sommer 1958 bis Ostern 1961 Winfriedschule (Aufbaugymnasium) Fulda
Sommer 1959 bis Herbst 1959 beurlaubt zum Besuch einer englischen Schule (Manchester High School)

Reifeprüfung 3. März 1961

Pharmazeutische Vorprüfung: 22. März 1963

Studium: Sommersemester 1963 Universität Frankfurt/Main (Naturwissenschaften)
Wintersemester 1963/64 Phil.-Theol. Hochschule Bamberg (Aufnahme des Pharmaziestudiums)
Sommersemester 1964 bis Sommersemester 1966 Universität Frankfurt/Main
Wintersemester 1967/68 Universität Freiburg

Pharmazeutische Prüfung: 28. Oktober 1966

Approbation: 1. Februar 1968

Berufliche Tätigkeiten: 1961 bis 1963 Dalberg-Apotheke Fulda (Apotheker-Praktikantin)
15.9.1963 bis 31.10.1963 Bahnhof-Apotheke Lauterbach/Hessen (Vorexaminierte)

1.2.1967 bis 31.7.1967 St. Rochus-Apotheke,
Wangen/Allgäu (Kandidatin)

1.8.1967 bis 15.10.1967 Propstei-Apotheke
Petersberg/Fulda (Kandidatin)

15.10.1967 bis 15.7.1969 Pharmazeutisches
Institut der Universität Freiburg/Breisgau
(wissenschaftliche Mitarbeiterin)

seit dem 1.9.1969 Klinik für Haut- und Ge-
schlechtskrankheiten der Freien Universität
Berlin im Städtischen Rudolf-Virchow-Kranken-
haus (wissenschaftliche Angestellte)

